

Glykoside aus Goldlacksamen Cheiranthus Cheiri L.

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

NATVERLAL M. SHAH

aus Indien

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1949

Glykoside aus Goldlacksamen Cheiranthus Cheiri L.

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

NATVERLAL M. SHAH

aus Indien

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1949

Genehmigt von der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

auf Antrag der Herren Professoren
Dr. T. REICHSTEIN und Dr. K. LEUPIN

Basel, den 7. Dezember 1948

Der Dekan:
Prof. Dr. M. FIERZ



Separatabdruck aus
«Pharmaceutica Acta Helvetiae» 24, 113 (1949)

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN

danke ich für sein reges Interesse, das er dieser Arbeit stets entgegenbrachte, sowie für die vielen Ratschläge und die wertvolle Hilfe, die ich immer von ihm empfangen durfte.

Meiner Frau
und
meinen lieben Eltern

Glykoside aus Goldlacksamen, *Cheiranthus Cheiri* L.

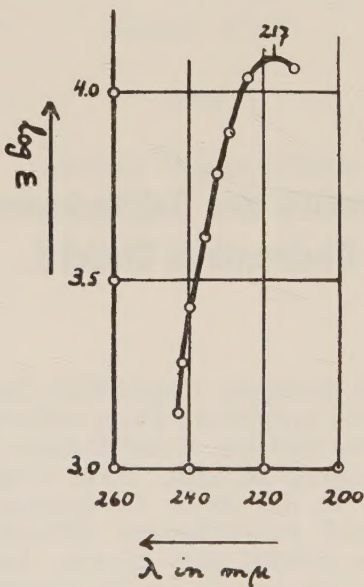
Aus den Samen des Goldlacks, *Cheiranthus Cheiri* L., wurden vor einiger Zeit 7 Substanzen in azetylierter Form isoliert, die als Azetate A – G bezeichnet wurden¹. Den Azetaten A und B lagen Laktone zugrunde, die nach vorsichtiger Verseifung in krist. Form erhalten werden konnten. Ersteres wurde Lakton A, das zweite Cheirototoxin genannt. Cheirototoxin erwies sich als sehr stark herzwirksames Glykosid, das sich vom Strophanthidin ableitet. Es enthielt zwei Zucker. Da aus dem Hydrolysat D -Glucosazon isoliert werden konnte, wurde vermutet, daß der eine Zucker mit D -Glukose identisch ist. Für den andern wurde wahrscheinlich gemacht, daß es sich um eine Pentose oder Methylpentose handelt. Lakton A erwies sich ebenfalls als Oxylakton, das durch Alkali in ein Isolakton umgelagert wird. Da es am Frosch nur sehr geringe Wirksamkeit zeigte und da bei der damaligen Bestimmung des Ultraviolett-Absorptionsspektrums die für α, β -ungesättigte Laktone charakteristische selektive Absorption nicht gefunden werden konnte, wurde angenommen, daß es nicht zur Gruppe der digitaloiden Glykoside gehört.

Inzwischen haben wir die Isolierung wiederholt. Aus zwei kurz nacheinander bezogenen Samenchargen (Gemisch einfach blühender Gartenvarietäten⁴) wurden sowohl Azetat A als Cheirototoxin-azetat wieder er-

¹ H. Schwarz, A. Katz, T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* 21, 250 (1946).

⁴ Bezogen von der Firma F. Haubensak Söhne AG., Basel.

halten, die anderen Azetate C – G jedoch nicht mehr ⁵. Hingegen wurde aus der ersten Samencharge ein bisher noch unbekanntes Azetat vom Smp. 168° isoliert, das als Azetat H bezeichnet wird. Durch vorsichtige Verseifung konnte der zugrunde liegende Stoff, Substanz H, kristallisiert gewonnen werden. Er schmolz bei 305°, erwies sich als Lakton und gab eine positive *Legal*-Reaktion. Sein Azetat zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 217 m μ (siehe Kurve) ⁶ und wurde durch Alkali in eine Isoverbindung übergeführt. Wie weiter unten noch genauer bewiesen wird, handelt es sich um ein digitaloides Glykosid, das zwei Zucker enthält; wir nennen es daher Cheirosid H. An der Katze war es knapp halb so stark wirksam wie Digitoxin (siehe Tabelle) ⁷. Im folgenden wird das Ergebnis der Untersuchung von Cheirotxin, Lakton A (= Cheirosid A) und Cheirosid H besprochen.



Ultraviolett-Absorptionsspektrum von Cheirosid-H-azetat
(Mol-Gew. 935) in Alkohol

⁵ Ob dies daran liegt, daß in den neuen Versuchen nur die Anteile, die Azetat A und Cheirotxin-azetat enthielten, besonders sorgfältig chromatographiert wurden, oder ob in den jetzt verwendeten Samen die anderen Stoffe gar nicht enthalten waren, wurde nicht geprüft.

⁶ Wir danken Herrn Prof. H. Mohler, Zürich, bestens für die Ausführung der Messungen; bezüglich der Methodik vergleiche T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* 20, 953 (1937), Fußnote 3, pag. 957.

⁷ Diese und die folgenden biologischen Bestimmungen wurden von Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, ausgeführt, der darüber andernorts berichten wird. Wir möchten ihm auch hier für die Bekanntgabe seiner Resultate bestens danken.

Cheirotoxin

Um die Zuckerkomponenten des Cheirotoxins aufzuklären, wurde zunächst versucht, dieses Glykosid mit Strophanthobiase^{8, 9} partiell zu spalten. Mit einem aus den Samen von *Strophanthus kombé* bereiteten Präparat¹⁰ gelang dies, allerdings mit schlechter Ausbeute. Bei 4tägiger Einwirkung (bei 37°) waren etwa $\frac{2}{3}$ Cheirotoxin unverändert, der Rest war hydrolysiert. Der entstandene Zucker konnte durch Überführung in krist. α -Methyl-D-glucosid-(1,5) eindeutig als D-Glukose identifiziert werden. Das glykosidische Spaltstück konnte nach Chromatographie in krist. Form gefaßt werden. Es wurde als Desgluco-cheirotoxin (II) bezeichnet und zeigte an der Katze eine bemerkenswert hohe biologische Wirksamkeit (siehe Tabelle). Die Analysen stimmten auf die Formel $C_{28}H_{40}O_{10}$. Es ließ sich durch ein krist. Azetat $C_{34}H_{46}O_{13}$ charakterisieren.

Die schlechte Ausbeute bei der enzymatischen Spaltung erlaubte es leider nicht, für die Isolierung des unbekannten Zuckers vom Desgluco-cheirotoxin auszugehen. Daher wurde das Cheirotoxin selbst energisch hydrolysiert und aus dem abgetrennten Zuckergemisch die D-Glukose durch Gärung mit Hefe entfernt. Der verbleibende Zuckersirup zeigte eine spez. Drehung von $-11,9^\circ$ (in Wasser). Er wurde ins p-Bromphenylhydrazon übergeführt. Leider gelang es auch nach Impfen mit den p-Bromphenylhydrazonen von D-Xylose¹¹, D-Lyxose^{12, 13, 14, 15, 16}, L-Rhamnose¹⁷, D-Gulomethylose¹⁸ und D-Idomethylose¹⁹ nicht, das Derivat zur Kristallisation zu bringen²⁰. Es wurde daher nach *Herzfeld*²¹ mit Benzaldehyd gespalten und der so regenerierte Zucker mit Phenylhydrazin ins Osazon übergeführt. Dieses konnte in Kristallen erhalten werden, die sich nach Smp., Drehung, Analyse und besonders durch die charakteristische Schmelzpunkterhöhung²² mit L-Xylosazon als D-Xylosazon erwiesen. D-Xylose zeigt $[\alpha]_D = +19^\circ$ (Endwert in Wasser), D-Lyxose dagegen $-13,9^\circ$ ²³. Bei dem Zucker aus

⁸ W. A. Jacobs, A. Hoffmann, J. Biol. Chem. 69, 153 (1926).

⁹ A. Stoll, J. Renz, Enzymologia 7, 362 (1939).

¹⁰ Vergleiche J. Schmutz, T. Reichstein, Pharm. Acta Helv. 22, 359 (1947). Möglicherweise war das hier verwendete Präparat nicht sehr aktiv.

¹¹ W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, Rec. Trav. chim. pays-bas 22, 434 (1903).

¹² P. A. Levene, F. B. La Forge, J. Biol. Chem. 18, 325 (1914).

¹³ W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, Rec. Trav. chim. pays-bas 24, 36 (1905).

¹⁴ W. N. Haworth, E. L. Hirst, J. Chem. Soc. London, 1928, 1221.

¹⁵ R. A. Weerman, Rec. Trav. chim. pays-bas 37, 31 (1918).

¹⁶ V. Deulofeu, J. Chem. Soc. London, 1930, 2602.

¹⁷ E. Votoček, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43, 481 (1910).

¹⁸ P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. 111, 335 (1935); vgl. auch K. Doebel,

E. Schlittler, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 31, 688 (1948).

¹⁹ Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.

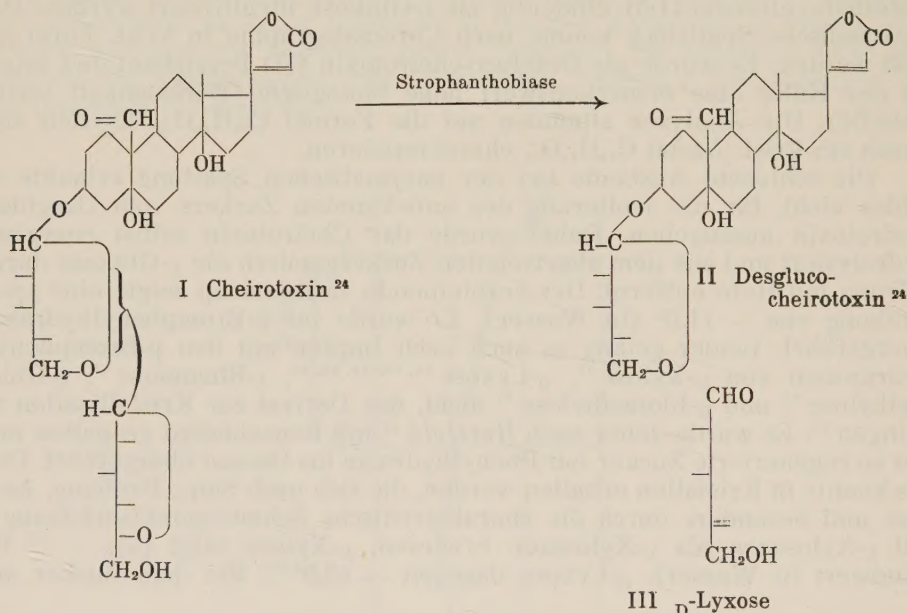
²⁰ Möglicherweise war die sehr geringe Menge an nicht ganz reinem Zuckersirup, die zur Verfügung stand, daran Schuld.

²¹ A. Herzfeld, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 28, 422 (1895).

²² D-L-Xylosazon schmilzt bei $210-215^\circ$, E. Fischer, O. Ruff, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 2142 (1900), also etwa 50° höher als die opt. aktiven Formen.

²³ O. Ruff, G. Ollendorf, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 1798 (1900); W. N. Haworth, E. L. Hirst, J. Chem. Soc. London 1928, 1221; C. R. Hockett, C. S. Hudson, J. Am. Chem. Soc. 56, 1632 (1934). (In dieser Arbeit ist aus Versehen der Drehungssinn mit + statt mit - angegeben.)

Cheirotoxin sollte es sich somit um D -Lyxose handeln. Da Lyxose unseres Wissens bisher noch nie in der Natur gefunden wurde und da aus digitaloiden Laktone bisher überhaupt noch nie Pentosen isoliert wurden, soll gelegentlich versucht werden, dieses Resultat weiter zu stützen. Falls es bestätigt werden kann, ist Cheiroxotin ein D -Glukosido- D -lyxosid des Strophanthidins, besitzt Formel $C_{34}H_{50}O_{15}$ und die Konstitution (I) ²⁴. Dem Cheirotoxin-azetat käme die Formel $C_{46}H_{62}O_{21}$ zu. Desgluco-cheirotoxin ist Strophanthidin- D -lyxosid und besitzt Formel (II).



Ein D -Xylosid (wahrscheinlich das β - D -Xylopyranosid) des Strophanthidins und sein Triazetat sind von *Elderfield* und *Uhle* ²⁵ teilsynthetisch aus D -Xylose und Strophanthidin bereitet worden. Wie sich aus der folgenden Zusammenstellung ergibt, sind diese Stoffe vom Desgluco-cheirotoxin und seinem Triazetat verschieden ²⁶.

Substanz	Smp. $[\alpha]_D$
Desgluco-cheirotoxin	191° + 1,3° (Methanol)
Desgluco-cheirotoxin-triazetat	156° + 28,6° (Methanol)
Strophanthidin- β - D -xylosid-(1,5)	152° + 7° (95 % Äthanol)
Strophanthidin- β - D -xylosid-triazetat	240° — 10° (Chloroform)

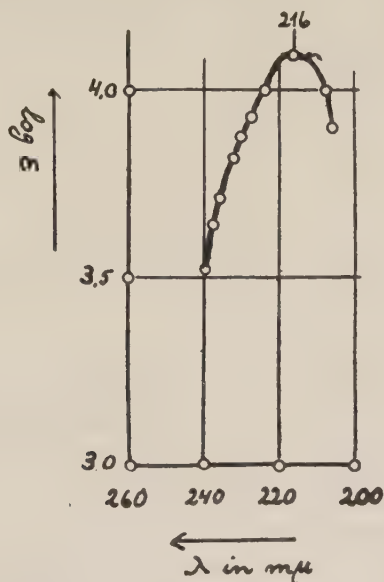
²⁴ Die Verknüpfung der Zucker ist unsicher, die pyranoid Formulierungen wahrscheinlich, aber nicht bewiesen; ferner ist unsicher, ob sie α - oder β -glykosidisch gebunden sind.

²⁵ R. C. Elderfield, F. C. Uhle, J. Organ. Chem. 8, 162 (1943).

²⁶ Dies ist kein strenger Beweis gegen das Vorkommen von D -Xylose im Desgluco-cheirotoxin, da es unbekannt ist, ob der Zucker im Desgluco-cheirotoxin α - oder β -glykosidisch gebunden ist.

Cheirosid A

Die genauere Untersuchung von Lakton A zeigte, daß es sich entgegen der früheren Vermutung doch um ein digitaloides Glykosid handelt; wir nennen es daher von nun an Cheirosid A. Das neue Präparat schmolz etwa 10° höher als das frühere, zeigte aber dieselbe Drehung. Die früheren Analysen, sowohl des Azetats als des freien Glykosids, erwiesen sich als falsch, und die früher gegebenen Formeln sind revisionsbedürftig. Aus den Abbauresultaten folgt, daß Cheirosid A die Formel $C_{35}H_{54}O_{13}$ besitzt und sein Hexazetat die Formel $C_{47}H_{66}O_{19}$. Nach gutem Trocknen stimmten die neuen Analysen für Cheirosid A annähernd und die des Azetats gut auf die berechneten Werte. Entgegen den früheren Befunden zeigte das Azetat im Ultraviolett auch selektive Absorption mit einem Maximum bei etwa 217 $m\mu$ (siehe Kurve), wie sie für α , β -ungesättigte Laktone typisch ist²⁷. Cheirosid A zeigte an der Katze etwa gleiche oder wenig höhere Wirksamkeit als Cheirosid H (siehe Tabelle)⁷.



Ultraviolett-Absorptionsspektrum von Cheirosid-A-azetat
(Mol.-Gew. 935) in Alkohol

Es wurde zunächst versucht, Cheirosid A mit Strophanthobiase enzymatisch abzubauen, doch blieb der Stoff dabei unverändert. Wir haben daher die Hydrolyse wieder durch 6stündiges Kochen mit 1proz. H_2SO_4 in 50proz. Alkohol durchgeführt. Nach Abtrennung des rohen Anhydrogenins (siehe unten) wurde das Zuckergemisch in üblicher Weise isoliert und anschließend wieder mit Hefe vergoren. Aus dem so von Glucose befreiten,

²⁷ W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle, R. C. Elderfield, J. Organ. Chem. 6, 273 (1941); weitere Lit. siehe A. Katz, T. Reichstein, Pharm. Acta Helv. 19, 231 (1944).

als farblosen Sirup erhaltenen Zucker konnte mit p-Bromphenylhydrazin ein gut kristallisiertes p-Bromphenylhydrazon isoliert werden, das sich durch direkten Vergleich eindeutig als Derivat der D -Fucose identifizieren ließ. Zur weiteren Charakterisierung wurde noch das ebenfalls gut kristallisierte Azetat dieses p-Bromphenylhydrazons bereitet; es war ebenfalls mit dem entsprechenden Derivat aus authentischer D -Fucose identisch. Cheirosid A enthält als Zuckerkomponenten somit eine vergärbare Hexose (wahrscheinlich D -Glucose) sowie D -Fucose.

Zur Aufklärung des Aglykons wurde zunächst das bei der sauren Hydrolyse erhaltene rohe Anhydrogenin einer sorgfältigen chromatographischen Reinigung unterworfen. Dabei konnte neben dem schon früher¹ beschriebenen Hauptprodukt, das wir zunächst als α -Anhydrogenin A bezeichnen, in kleiner Menge noch ein isomerer Stoff isoliert werden, der zunächst β -Anhydrogenin A genannt sei. Beide gaben kristallisierte Monoazetate²⁸, die mit Tetranitromethan deutliche Gelbfärbung zeigten. Vom α -Azetat wurde auch das Ultraviolett-Absorptionsspektrum aufgenommen; es zeigte die erwartete selektive Absorption mit einem Maximum bei etwa 217 m μ . Die Schmelzpunkte und Drehungen der vier Stoffe sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Substanz	Smp.	$[\alpha]_D$ in Chloroform
α -Anhydrogenin A	263 – 265°	– 26,1° $\pm$ 3°
α -Anhydrogenin-A-azetat	178 – 180°	– 35,9° $\pm$ 3°
β -Anhydrogenin A	236 – 238°	+ 2,4° $\pm$ 3°
β -Anhydrogenin-A-azetat	156 – 158°	– 2,3° $\pm$ 3°

Die Analysen der Anhydrogenine stimmten auf die Formel $C_{23}H_{32}O_3$. Danach war zu erwarten, daß dem Cheirosid A ein Aglykon der Formel $C_{23}H_{34}O_4$ zugrunde liegt. Diese Formel besitzt Digitoxigenin, doch war es unwahrscheinlich, daß dieses in Cheirosid A enthalten ist. Die zwei isomeren Anhydro-digitoxigenine, die beim Kochen von Digitoxigenin mit Säuren entstehen, sind bekannt²⁹, ebenso ihre Azetate. Die Schmelzpunkte und Drehungen der 4 Stoffe (siehe Tabelle unten) sind von den Werten in obiger Tabelle verschieden. Hingegen stimmen die von *Windaus* und *Haack*³⁰, *Tschesche*³¹ sowie *Tschesche* und *Bohle*³² für die zwei Anhydro-uzarigenine und ihre Azetate gefundenen Werte einigermaßen mit denjenigen unserer Anhydrogenine aus Cheirosid A überein. Durch das Entgegenkommen von Herrn Dr. *Tschesche*, der uns authentische Proben von β -Anhydro-uzarigenin, sowie von α - und β -Anhydro-uzarigenin-azetat überließ, konnten auch direkte Mischproben mit unserem β -Anhydrogenin A

²⁸ Das früher¹ in kleiner Menge erhaltene Azetat vom Smp. 138° dürfte entweder eine tiefschmelzende Kristallmodifikation oder ein nicht ganz reines β -Anhydro-azetat gewesen sein.

²⁹ *S. Smith*, J. Chem. Soc. London 1935, 1050.

³⁰ *A. Windaus, E. Haack*, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 63, 1377 (1930).

³¹ *R. Tschesche*, Z. physiol. Ch. 222, 50 (1933).

³² *R. Tschesche, K. Bohle*, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 68, 2252 (1935).

Substanz	Smp.	$[\alpha]_D$
α -Anhydro-digitoxigenin	234°	39,0° in Methanol
α -Anhydro-digitoxigenin-azetat	144°	
β -Anhydro-digitoxigenin	202°	— 13,3° in Methanol
β -Anhydro-digitoxigenin-azetat	185°	
α -Anhydro-uzarigenin ³¹	263 – 265°	— 29,5° in Methanol
α -Anhydro-uzarigenin-azetat ^{30, 31}	175°	
β -Anhydro-uzarigenin ³¹	236 – 237°	+ 4,9° in Methanol
β -Anhydro-uzarigenin-azetat ^{31, 32}	167 – 168°	+ 4,9° in Methanol
α -Anhydro-uzarigenin-azetat aus Odorosid B ^{33, 34}	178 – 180°	— 32,1° in Chloroform

sowie den α - und β -Anhydrogenin-A-azetaten durchgeführt werden ³⁵. Alle drei gaben keine Schmelzpunktniedrigung, wodurch die Identität weitgehend gesichert ist. Dank eines Zufalles hatten wir weiter die Möglichkeit, die Konstitution des α -Anhydrogenin-A-azetates durch Vergleich mit Material bekannter Konstitution sicherzustellen. Uzarigenin war bisher nicht bekannt. Kürzlich isolierten *Rangaswami* und *Reichstein* ³⁶ aus *Nerium Odorum* neben anderen Stoffen das Odorosid B, aus dem sich ein Aglykon $C_{23}H_{34}O_4$ isolieren ließ, das nach den Abbauresultaten mit Sicherheit die Konstitution (XII) besitzt. Diese Formel wurde von *Tschesche* für das hypothetische Uzarigenin abgeleitet. Wir haben nun aus dem Azetat (XIII) des Aglykons aus Odorosid B mit $POCl_3$ und Pyridin Wasser abgespalten. Dabei entstand ein einheitlicher Stoff (VII), der mit dem α -Anhydrogenin-A-azetat völlig identisch war und der nach Smp. und Mischprobe auch genau mit *Tschesches* α -Anhydro-uzarigenin-azetat ³⁵ übereinstimmte. Wir glauben daher, daß die von *Tschesche* dem Uzarigenin zugeschriebene Formel richtig ist. Dem α -Anhydrogenin-azetat kommt Formel (VII) zu, da die zur Wasserabspaltung verwendete Methode bisher immer Steroide mit einer Doppelverbindung in 14 – 15 Stellung geliefert hat. Dies wird auch durch den Verlauf der Hydrierung bestätigt. Das bei der sauren Hydrolyse als Hauptprodukt erhaltene α -Anhydrogenin-azetat (VII) nahm bei der Hydrierung 2 Mol. Wasserstoff auf, während das in kleiner Menge gewonnene β -Anhydrogenin-azetat (IX) nur 1 Mol. Wasserstoff verbrauchte. Es ist bekannt, daß die Doppelbindung in 8,14-Stellung unter normalen Bedingungen mit Pt in Eisessig nicht hydrierbar ist. Auf jeden Fall war bewiesen, daß dem bisher nicht in intakter Form isolierbaren Aglykon des Cheirosids A die Formel (XII) zukommt, wobei es sich höchstens noch durch Raumisomerie an C-14 von dieser Formel unterscheiden könnte. Eine

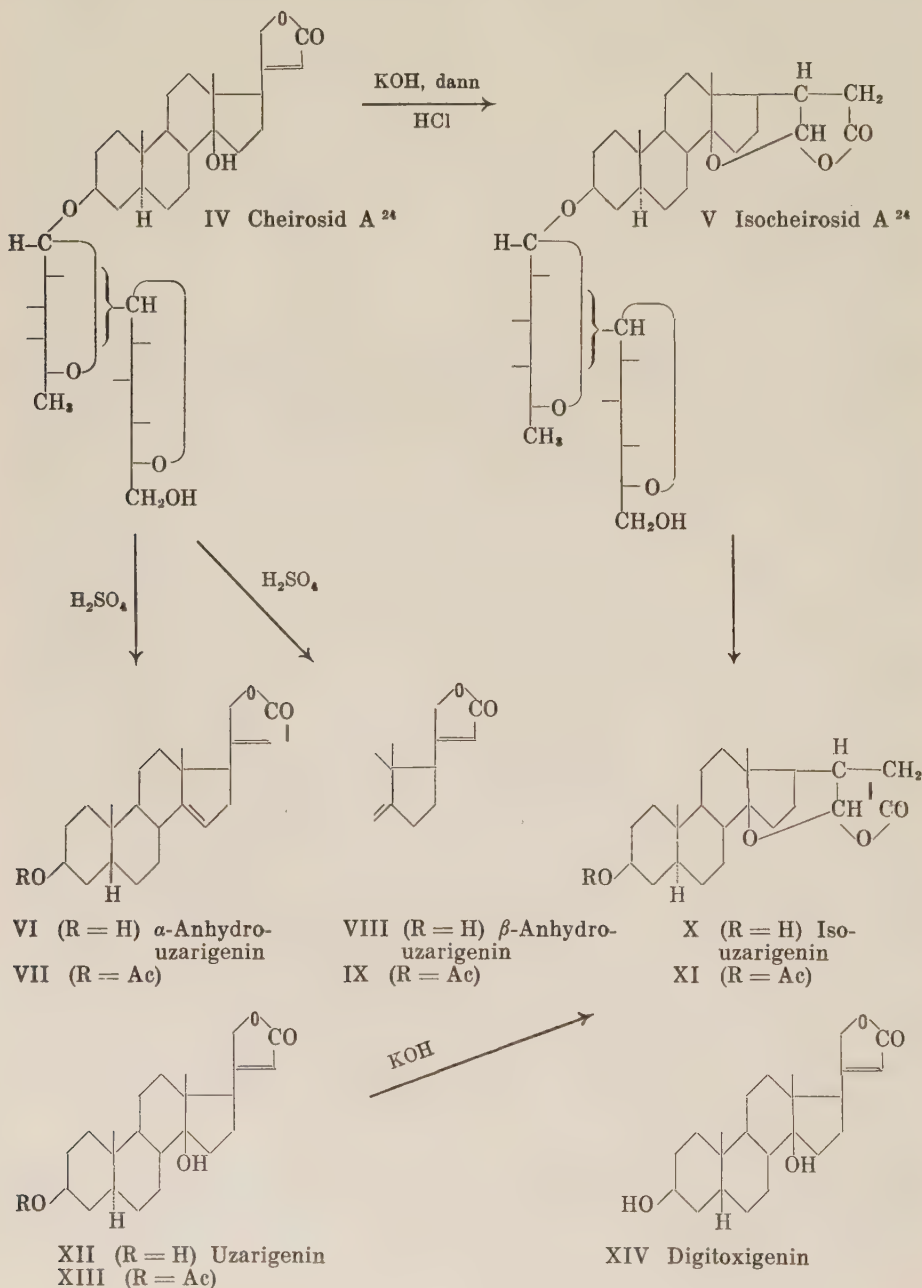
³³ Eigenes Vergleichspräparat.

³⁴ In der Digitoxigeninreihe dürfte die α -Verbindung eine Doppelbindung in 8,14-Stellung, die β -Verbindung in 14,15-Stellung tragen. In der Uzarigeninreihe ist das Umgekehrte der Fall.

³⁵ Wir möchten Herrn Dr. R. *Tschesche* auch hier für die freundliche Überlassung dieses Materials bestens danken.

³⁶ *S. Rangaswami, T. Reichstein, Pharm. Acta Helv. (im Druck).*

solche Isomerie war unwahrscheinlich und konnte durch einen anderen Abbau auch weitgehend ausgeschlossen werden, wobei die obigen Resultate noch weiter gestützt wurden.



Digitoxigenin (XIV) wird von Alkali in Isodigitoxigenin^{37, 38} umgelagert, und analog verhalten sich andere Laktone dieses Typs. Die Isoverbindung erleidet nun nach *Windaus* und *Stein*³⁹, zum Unterschied vom Digitoxigenin in alkoholischer Salzsäure, keine Anhydrierung und bleibt unverändert. Wir überzeugten uns, daß Isodigitoxigenin auch unter den von uns benützten Hydrolysebedingungen (6stündiges Kochen mit 1proz. H₂SO₄ in 50proz. Alkohol) im Wesentlichen unverändert bleibt. Hierauf wurde Cheirosid A, wie bereits früher beschrieben, in die Isoverbindung (V) umgelagert und diese unter den oben erwähnten Bedingungen mit 1proz. H₂SO₄ hydrolysiert. Das erhaltene Aglykon (X) konnte kristallisiert isoliert und als kristallisiertes Azetat (XI) charakterisiert werden^{40, 41}. Dieselben zwei Stoffe erhielten wir durch Umlagerung von Uzarigenin (XII) (aus Odorosid B) mit Alkali und anschließende Azetylierung. Cheirosid A besitzt somit die Formel (IV) und enthält als Aglykon Uzarigenin, das sich vom Digitoxigenin lediglich durch Raumisomerie an C-5 unterscheidet. Dieser geringe Unterschied im chemischen Bau ist für die biologische Wirksamkeit erheblich, da die Glykoside des Uzarigenins bedeutend schwächer wirksam sind als diejenigen des Digitoxigenins⁴². Die relativ schwache Wirksamkeit des Cheirosids A dürfte somit in erster Linie durch den Bau seines Aglykons bedingt sein.

Cheirosid H

Cheirosid H (XV) wird durch Alkali in eine Isoverbindung umgelagert. Durch ein Versehen wurde fast die ganze verfügbare Substanzmenge dieser Reaktion unterworfen, so daß die weitere Untersuchung zur Hauptsache mit dem Isocheirosid H durchgeführt werden mußte. Es wurde nur festgestellt, daß Cheirosid-H-azetat durch CrO₃ in Eisessig bei 18° nicht merklich angegriffen wird, so daß es weder eine Aldehydgruppe noch eine freie sekundäre HO-Gruppe enthält. Isocheirosid H gab ebenfalls ein kristallisiertes Azetat.

Zur hydrolytischen Spaltung wurde das Isocheirosid H wieder 6 Stunden mit 1proz. H₂SO₄ in 50proz. Alkohol gekocht. Nach Abtrennung des Isogenins (siehe unten) wurde das Gemisch der Zucker in üblicher Weise als Sirup isoliert. Ein Teil wurde mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung erhitzt, worauf sich *D*-Glucosazon isolieren ließ. Die Hauptmenge des

³⁷ *H. Kiliani*, Arch. Pharmaz. 237, 452 (1888); ferner *M. Cloëtta*, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 88, 138 (1920).

³⁸ *W. A. Jacobs, E. L. Gustus*, J. Biol. Chem. 78, 573 (1928).

³⁹ *A. Windaus, G. Stein*, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 2436 (1928).

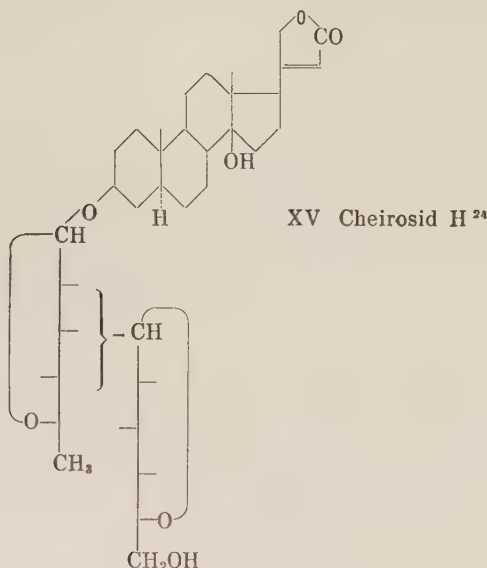
⁴⁰ Die Isoverbindungen gaben bei der Chromatographie an Al₂O₃ immer große Verluste. Wahrscheinlich reagiert ein Teil wegen der leichten Hydrolysierbarkeit der Isolaktongruppe leicht mit dem Al₂O₃.

⁴¹ Ein Glykosid oder Aglykon mit normaler Konfiguration an C-17, das sich von Uzarigenin (XII) durch Raumisomerie an C-14 unterscheidet, sollte mit Alkali überhaupt keine Isoverbindung vom Typus X geben können. Falls eine Isomerisierung eintritt, so mußte das Endprodukt von X verschieden sein.

⁴² Ein Paar solcher Glykoside, die denselben Zucker enthalten, sind die Odoroside A und B³⁶, von denen A sich vom Digitoxigenin ableitet und etwa 8- bis 10mal stärker wirkt als das isomere B, welches Uzarigenin enthält.

Zuckers wurde mit Hefe vergoren. Der unvergärbare Rest zeigte $[\alpha]_D^{17} = +7,1^\circ$ (in Wasser), und es ließ sich daraus mit p-Bromphenylhydrazin ein kristallisiertes p-Bromphenylhydrazon vom Smp. 169° isolieren, das sich durch direkten Vergleich mit L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon¹⁷ als identisch erwies⁴³. Cheirosid A enthält als Zuckerkomponenten somit eine vergärbare Hexose (wahrscheinlich D-Glucose) sowie L-Rhamnose.

Das bei der Hydrolyse erhaltene rohe Isogenin⁴⁴ ließ sich nach Chromatographie in kristallisierter, reiner Form fassen, wobei allerdings die bei der Chromatographie von Isoverbindungen üblichen großen Verluste eintraten. Das reine Isogenin besaß die Formel $C_{23}H_{34}O_4$, gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung und erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe und Drehung als identisch mit dem bei Cheirosid A erwähnten Iso-uzarigenin. Es wurde weiter durch sein kristallisiertes Azetat charakterisiert, das sich ebenfalls mit Isouzarigenin-azetat als identisch erwies. Cheirosid H dürfte als Aglykon somit ebenfalls Uzarigenin enthalten und die Formel XV besitzen. Es unterscheidet sich von Cheirosid A zur Hauptsache durch einen der Zucker. Die Verbrennungswerte des Cheirosids H und seines Hexazetates stimmen mit der gegebenen Formulierung überein.



In folgender Tabelle ist die Toxizität der 3 aus Goldlacksamen isolierten herzwirksamen Glykoside sowie des Desgluco-cheirottoxins zusammengestellt. Als Vergleich sind die entsprechenden Werte für einige ähnlich gebaute Stoffe angegeben.

⁴³ Das Azetat des L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazons kristallisiert ebenfalls gut, doch konnte das aus Cheirosid H isolierte Material nicht mehr in dieses Derivat übergeführt werden, da die vorhandene Menge hierfür nicht ausreichte.

⁴⁴ Die Bezeichnung ist berechtigt, da die Isoverbindungen unter den hier benützten Hydrolysebedingungen kein Wasser abspalten.

Toxizität an der Katze

Substanz	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg
Cheirotoxin	0,1185 ± 0,0036 ⁴⁵
Desgluco-cheirotoxin (an 10 Tieren) . . .	0,0964 ± 0,0063 ⁷
Cheirosid A (an 10 Tieren)	0,6833 ± 0,0525 ⁷
Cheirosid H (an 12 Tieren)	0,7866 ± 0,0773 ⁷
Digitoxin	0,33 ± 0,008 ⁴⁶
Strophanthidin-β-D-xylosid-(1,5) ²⁵ . . .	0,1095 ± 0,004 ⁴⁷
Uzarin	4,586 ± 0,737 ⁴⁸

In Anbetracht der Tatsache, daß es sich um Derivate des Uzarigenins und dazu um Diglykoside handelt, ist die Wirksamkeit der Cheiroside A und H relativ hoch.

Farbreaktion mit konz. H₂SO₄

Substanz	Färbung nach angegebener Zeit					
	0'	5'	15'	2 Std.	8 Std.	24 Std.
Cheirosid A	gelbrot	gelb-braun	gelb-braun	braunrot	dunkel-violett	violett
Cheirosid-azetat	gelb-braun	gelb-braun	gelb-braun	rot	violett	violett
Cheirotoxin	hellrot	braunrot	braunrot	dunkel-braun	grau-braun	gelb
Cheirotoxin-azetat	hellrot	braun	braun	gelb	grün	grün
Cheirosid H	braun-gelb	dunkel-rotbraun	dunkel-rotbraun	orangerot	violett	braun-violett
Cheirosid-H-azetat	gelb	gelb	gelbrot	rot-violett	violett	violett
α-Anhydro-uzarigenin	zitronengelb	zitronengelb	zitronengelb	gelb-braun	grün	grün
α-Anhydro-uzarigenin-azetat	zitronengelb	zitronengelb	zitronengelb	gelb-braun	grün	grün
Isouzarigenin	rosa	rosa	braun	gelbbraun	gelbbraun	grün
Isouzarigenin-azetat	rosa	rosa	braun	gelbbraun	gelbbraun	braun

Etwa ½ mg Substanz in der Vertiefung einer weißen Porzellan-Tüpfelplatte mit 2–3 Tropfen konz. H₂SO₄ gut vermischt und am Tageslicht beobachtet.

⁴⁵ K. K. Chen, R. C. Anderson, J. Pharmacol. and Exper. Therap. 90, 271 (1947).

⁴⁶ K. K. Chen, A. L. Chen, R. C. Anderson, J. Am. Pharmac. Assoc. 25, 579 (1936); vgl. auch K. K. Chen, E. B. Robbins, H. Worth, J. Am. Pharmac. Assoc. 27, 189 (1938) und E. Rothlin, Schweiz. med. Wochschr. 70, 577 (1940).

⁴⁷ K. K. Chen, R. C. Elderfield, J. Pharmacol. and Exper. Therap. 76, 81 (1942).

⁴⁸ K. K. Chen, A. L. Chen, R. C. Anderson, J. Am. Pharmac. Assoc. 25, 579 (1936).

Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei der Aufarbeitung zweier neuer Chargen von Goldlacksamen wurden von den früher isolierten 7 Substanzen nur Lakton A und Cheirototoxin wieder erhalten; aus der einen Charge jedoch noch eine bisher unbekannte neue Substanz H.

Cheirototoxin ließ sich enzymatisch mit Strophanthobiase in D -Glucose und Desgluco-cheirototoxin spalten. Letzteres besitzt sehr hohe Herzwirksamkeit und enthält als Zuckerkomponente wahrscheinlich D -Lyxose, was jedoch noch eindeutig bewiesen werden muß. Das Aglykon wurde schon früher als Strophanthidin erkannt.

Lakton A blieb bei der Einwirkung von Strophanthobiase unverändert. Entgegen der früheren Annahme erwies es sich als digitaloides Lakton und wird von nun an Cheirosid A genannt, besitzt aber nur mäßige Herzwirksamkeit. Die früher für diesen Stoff abgeleiteten Formeln erwiesen sich als falsch. Bei energischer saurer Hydrolyse lieferte es 2 Zucker und zwei isomere Anhydrogenine, die mit α - und β -Anhydro-uzarigenin identisch waren. Von den zwei Zuckern war einer eine vergärbare Hexose, wahrscheinlich D -Glucose, der andere war D -Fucose. Das aus Cheirosid A mit Alkali erhältliche Isocheirosid A gab bei saurer Hydrolyse neben Zucker ein Isogenin. Dasselbe Isogenin konnte durch Isomerisierung eines Genins aus Odorosid B, dessen Konstitution abgeklärt war, erhalten werden.

Substanz H war ebenfalls ein digitaloides Lakton von mäßiger Herzwirksamkeit und wird daher als Cheirosid H bezeichnet. Es war mit Cheirosid A isomer und enthielt dasselbe Aglykon (Uzarigenin) wie dieses. Von den zwei Zuckern war einer eine vergärbare Hexose, wahrscheinlich D -Glucose, der andere war L -Rhamnose.

Für Vergleichszwecke wurde das Genin aus Odorosid B, dessen Konstitution bekannt ist und das sich von Digitoxigenin lediglich durch Raumisomerie an C-5 unterscheidet, einerseits in ein Anhydrogenin-azetat, andererseits in das Isogenin und sein Azetat übergeführt. Das Anhydro-azetat war identisch mit α -Anhydro-uzarigenin-azetat von *Tschesche* und mit dem aus Cheirosid A erhaltenen α -Anhydrogenin-A-azetat. Das Isogenin-azetat war identisch mit den aus Cheirosid A und Cheirosid H erhaltenen Isogenin-azetaten.

Das aus Odorosid B erhaltene Genin, dessen Konstitution völlig aufgeklärt ist, dürfte mit dem bisher hypothetischen Uzarigenin identisch sein.

Für die Abklärung der Konstitution von Cheirosid A und H wurden diese Laktone wie erwähnt auch in die Isoverbindungen übergeführt und diese hydrolysiert, wobei die Isogenine *ohne* Anhydrierung isoliert werden konnten. Diese Methode dürfte möglicherweise auch zur Aufklärung anderer schwer spaltbarer Glykoside geeignet sein.

N. M. Shah dankt Herrn *G. P. Sonawala*, Bombay (Indien), für ein Stipendium, das ihm die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bei Temperaturen bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Stunde im Hochvakuum bei 60° getrocknet, zur Analyse 4 Stunden bei 100° über P_2O_5 (sonst Angabe). «Schweinchen» bedeutet, daß die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von Wasser, Ausschütteln mit Äther (oder Chloroform), Waschen mit verd. HCl (bei CrO_3 -Oxydationen mit H_2SO_4), Na_2CO_3 und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen.

Extraktion der Rohglykoside

Diese geschah wie früher beschrieben¹, doch wurde nur einmal kalt mit 70proz. Methanol, dann mit heißem, reinem Methanol fertig extrahiert. Die Bleihydroxydfällung geschah in 50proz. Methanollösung. Nach Abnutschen wurde die Lösung mit HCl leicht lackmussauer gemacht und dann im Vakuum eingedampft. Zur besseren Filtration diente Kieselgur (Hyflo super Cel) anstelle von Sand. Erhalten wurden

Substanz	Aus 2 kg erste Charge	Aus 3 kg zweite Charge
Petrolätherlösl. Fett	etwa 600 g	800 g
Ätherextrakt	etwa 7 g	10 g
Chloroform-Alkohol-Extrakt (Roh-Glykoside)	17,8 g	22,5 g

Isolierung der reinen Azetate

Die 17,8 g Rohglykoside der ersten Samencharge (2 kg) wurden wie früher azetyliert und chromatographiert (neutrales Al_2O_3 im Vakuum bei 190° $\frac{1}{2}$ Std. reaktiviert). Die mit Benzol-Chloroform (9 : 1) eluierbaren Anteile gaben aus Azeton-Äther 0,104 g rohes A-Azetat (Smp. 246 – 250°). Eine anschließend mit Benzol-Chloroform (4 : 1) eluierte Fraktion gab aus Azeton-Äther 1,645 g rohes H-Azetat (Smp. 158 – 165°). Zwei weitere mit Benzol-Chloroform (4 : 1), sowie zwei mit Benzol-Chloroform (1 : 1) erhaltene Fraktionen gaben aus Methanol bei 0° 0,5 g rohes Cheirotoxin-azetat vom Smp. 215 – 220°. Nochmalige Chromatographie der Kristallmutterlaugen, sowie der benachbarten Fraktionen gab noch 150 mg rohes H-Azetat und 160 mg rohes Cheirotoxin-azetat.

Die 22,5 g Rohglykoside aus der zweiten Samencharge (3 kg) gaben 29,1 g rohes Azetatgemisch und daraus 2,46 g A-Azetat sowie 480 mg rohes Cheirotoxin-azetat. Aus den Mutterlaugen und benachbarten Fraktionen nach nochmaliger Chromatographie noch 132 mg und 400 mg derselben Stoffe. H-Azetat wurde hier nicht gefunden.

Nach Umkristallisieren wurden aus den 5 kg Samen die folgenden Mengen der reinen Azetate erhalten:

- 2,4 g A-azetat vom Doppel-Smp. 178 – 199° / 247 – 249°,
 1,6 g H-azetat vom Smp. 166 – 168°,
 1,33 g Cheirotloxin-azetat vom Smp. 218 – 220°.

Azetat H

Aus Azeton-Äther farblose Nadeln, Smp. 166 – 168°; $[\alpha]_D^{18} = + 4,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8790$ in Chloroform).

8,856 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = + 0,04^\circ \pm 0,02^\circ$
 3,591 mg Subst. gaben $7,954 \text{ mg CO}_2$ und $2,358 \text{ mg H}_2\text{O}$ (ETH)
 $\text{C}_{47}\text{H}_{66}\text{O}_{19}$ (935,00) Ber. C 60,37 H 7,12%
 Gef. C 60,45 H 7,35%

Die Mischprobe mit D-Azetat¹ vom Smp. 164 – 166° schmolz bei 154 – 160°. H-Azetat zeigte eine positive (rote) *Legal*-Reaktion, bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion⁴⁹ jedoch keine Färbung. Es war in Chloroform und Azeton leicht, in Methanol schwerer, in Äther wenig löslich. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei etwa $217 \text{ m}\mu$ und $\log \varepsilon = 4,10$ (siehe Kurve im Theoret. Teil). Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 siehe Tabelle.

Einwirkung von CrO_3 . 30 mg Azetat H vom Smp. 164 – 166° in $0,5 \text{ cm}^3$ reinstem Eisessig gelöst, mit $0,15 \text{ cm}^3$ 2proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung versetzt und 18 Std. bei 18° stehen gelassen, worauf sich noch etwas CrO_3 nachweisen ließ. Nach Zugabe von $0,2 \text{ cm}^3$ Methanol wurde noch 12 Std. stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform-Äther) gab 22 mg Neutralsubstanz, die sich als unverändertes Azetat H erwies (Mischprobe).

Cheirosid H

150 mg Azetat H vom Smp. 166 – 168° in 40 cm^3 Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 150 mg KHCO_3 in 10 cm^3 Wasser versetzt und 10 Tage bei 18° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum auf 10 cm^3 eingeeengt und 12mal mit je 15 cm^3 Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten einen weiteren Scheidetrichter mit 3 cm^3 Wasser, wurden dann über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der farblose, schaumige Rückstand (120 mg) gab aus Alkohol 80 mg farblose Nadeln, Smp. 302 – 304°; $[\alpha]_D^{12} = - 26,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7849$ in Pyridin).

7,908 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{12} = - 0,21^\circ \pm 0,02^\circ$.

Zur Analyse wurde 14 Std. im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,633 mg Subst. gaben $8,19 \text{ mg CO}_2$ und $2,57 \text{ mg H}_2\text{O}$ (S. W.)
 $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{18}$ (682,78) Ber. C 61,55 H 7,97%
 Gef. C 61,52 H 7,42%

⁴⁹ Ausführung nach J. von Euw, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 31, 883 (1948).

Cheirosid H ist relativ schwer löslich in Methanol, Äthanol und Chloroform, leichter in Chloroform-Alkohol, fast unlöslich in Azeton und Äther. In Wasser und wäßrigem Alkohol ist es gut löslich. Die wäßrige Lösung schmeckt stark bitter. Es gab eine positive (rote) *Legal*-Reaktion, aber bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion keine Färbung. Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 sowie Toxizität an der Katze siehe Theoret. Teil.

Enzymatische Spaltung von Cheirotxin mit Strophanthobiase

0,5 g reines Cheirotxin (I) vom Smp. $208-210^\circ$ in 150 cm^3 Wasser gelöst, mit 0,5 g Strophanthobiase-Präparat (aus *Strophanthus-kombé*-Samen bereitet⁹) und $1,4\text{ cm}^3$ Toluol versetzt und gut durchgeschwenkt. Die trübe Mischung wurde 4 Tage bei 37° gehalten und öfters umgeschwenkt. Hierauf wurde mit 500 cm^3 95proz. Alkohol versetzt, kurz aufgeköcht, nach dem Erkalten filtriert, das Filtrat im Vakuum auf 50 cm^3 eingengt und 10mal mit je 50 cm^3 Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterließen beim Eindampfen 0,4 g Glykosidgemisch. Die wäßrigen Anteile und das Waschwasser dienten zur Isolierung der Glucose (siehe unten).

Die 400 mg rohes Glykosidgemisch wurden in $2,5\text{ cm}^3$ Methanol gelöst, mit $47,5\text{ cm}^3$ Chloroform versetzt und durch eine mit Chloroform bereitete Säule von 12 g alkalifreiem (bei 180° aktiviertem) Al_2O_3 filtriert. Zum Nachwaschen dienten Chloroform-Methanol-Gemische von steigendem Methanol-Gehalt. Aus den mit Chloroform-Methanol (4:1) eluierbaren Anteilen (etwa 130 mg) ließen sich aus Methanol-Wasser 50 mg Kristalle vom Smp. $182-188^\circ$ gewinnen, die fast reines Desgluco-cheirotxin darstellten. Die schwerer, besonders mit Chloroform-Methanol (1:1) und (1:4) eluierbaren Anteile gaben aus wenig Wasser krist. Cheirotxin. Diese und alle amorphen Fraktionen wurden vereinigt (200 mg) und nochmals einer enzymatischen Spaltung unterworfen, worauf wieder etwa $\frac{1}{3}$ des regenerierten Glykosid-Gemisches als Desgluco-cheirotxin gefaßt werden konnte. Ein dritter Versuch mit 370 mg Cheirotxin verhielt sich gleich.

Desgluco-cheirotxin (II)

Die obigen Rohkristalle wurden dreimal aus Methanol-Wasser umkristallisiert und gaben 150 mg farblose Nadeln vom Smp. $188-189^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7821$ in Methanol).

7,956 mg Subst. zu $1,0075\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{20} = +0,01^\circ \pm 0,02^\circ$

3,706 mg Subst. 6 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet (Schweinchen) gaben

0,134 mg Gewichtsverlust

3,572 mg Subst. gaben 8,160 mg CO_2 und 2,508 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$ (536,60)	Ber. C 62,67	H 7,51%
	Gef. C 62,34	H 7,86%

Desgluco-cheirotxin ist in Methanol und Äthanol leicht, in Wasser mäßig, in Chloroform und Äther sehr schwer löslich. Die wäßrige Lösung schmeckt stark bitter. Farbreaktion mit H_2SO_4 (gleich wie Cheirotxin) und Toxizität an der Katze siehe Theoret. Teil.

Desgluco-cheirotxin-azetat

40 mg Desgluco-cheirotxin vom Smp. $188 - 189^\circ$ in $1,5 \text{ cm}^3$ abs. Pyridin gelöst, mit 1 cm^3 Azetanhydrid versetzt und 48 Std. bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 45 mg Rohprodukt, das an $1,1 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform (1 : 1) eluierbaren Anteile gaben aus Methanol-Äther 38 mg farblose Nadeln, Smp. $152 - 154^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = + 28,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8406$ in Methanol).

8,475 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{18} = + 0,23^\circ \pm 0,02^\circ$

3,396 mg Subst. gaben $7,771 \text{ mg CO}_2$ und $2,264 \text{ mg H}_2\text{O}$ (ETH)

$\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{13}$ (662,70)	Ber. C 61,61	H 7,00 %
	Gef. C 62,45	H 7,46 %

Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 siehe Theoret. Teil.

Desgluco-cheirotxin-azetat-säure

30 mg Desgluco-cheirotxin-azetat wurden in $0,5 \text{ cm}^3$ reinstem Eisessig gelöst, mit $0,3 \text{ cm}^3$ 2proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung versetzt und 16 Std. bei 18° stehengelassen, worauf alle Chromsäure verbraucht war. Es wurden nochmals $0,2 \text{ cm}^3$ zugegeben und 2 Std. stehengelassen, worauf noch CrO_3 nachweisbar war. Aufarbeitung wie bei Cheirotxin-azetat-säure¹ gab 5 mg neutrale und 25 mg saure Anteile. Beide waren amorph. Auch der aus der Säure mit Diazomethan bereitete Methyl ester konnte weder direkt noch nach Chromatographie kristallisiert werden.

Nachweis der Glucose aus der enzymatischen Spaltung von Cheirotxin

Die wäßrige Phase der drei enzymatischen Spaltungen (total aus $1,07 \text{ g}$ Cheirotxin, von dem etwa $0,4 \text{ g}$ gespalten worden waren) wurden im Vakuum von Chloroform- und Alkohol-Resten befreit, durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht und im Vakuum eingedampft. Der mit 1 Tropfen Wasser verflüssigte Rückstand wurde mit Methanol versetzt, die flockige Fällung abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft und die Fällung mit Methanol so oft wiederholt, bis zuletzt ein Sirup erhalten wurde, der auch im trockenen Methanol fast klar löslich war. Diese Methanol-Lösung wurde mit abs. Alkohol versetzt, worauf wieder eine Fällung entstand, die abfiltriert wurde. Das im Vakuum eingedampfte Filtrat gab nach Trocknen im Vakuum 157 mg farblosen Zuckersirup, der *Fehlingsche* Lösung stark reduzierte. Er wurde in einigen Tropfen abs. Methanol gelöst und mit einer Spur wasserfreier D-Glucose (frisch aus Methanol kristallisiert) geimpft. Es schieden sich wenig Kri-

stalle ab, Smp. 145–157°, Mischprobe ebenso. Wegen der schlechten Ausbeute wurde der ganze verbleibende Sirup (145 mg) mit 4,5 cm³ 1proz. methanolischer HCl 24 Std. unter Rückfluß gekocht. Die hellbraune Lösung, die *Fehlingsche* Lösung nicht mehr reduzierte, wurde durch 16stündiges Schütteln mit PbCO₃ neutralisiert, durch ein mit PbCO₃ gedichtetes Filter genutscht und mit wenig gewaschener Tierkohle entfärbt. Das farblose Filtrat wurde im Vakuum eingedampft. Der mit wenig Methanol verflüssigte Rückstand kristallisierte nach Animpfen mit α -Methyl-D-glucosid-(1,5) sofort. Die Abscheidung wurde durch Zusatz von wenig Azeton möglichst vervollständigt und gab 24 mg Rohprodukt vom Smp. 163–165°. Sublimation im Molekularkolben, sowie Umkristallisieren aus Methanol-Azeton gaben 18 mg farblose, prismatische Nadeln vom Smp. 166–167°; $[\alpha]_D^{20} = +169,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7910$ in Methanol).

7,979 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +1,34^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 6 Std. im Hochvakuum bei 50° über P₂O₅ getrocknet (Schweinchen).

3,655 mg Subst. gaben 5,764 mg CO₂ und 2,446 mg H₂O (OAB)

C ₇ H ₁₄ O ₆ (194,18)	Ber. C 43,32	H 7,27 %
	Gef. C 43,04	H 7,49 %

Die Mischprobe mit authentischem α -Methyl-D-glucosid-(1,5)⁵⁰ schmolz gleich.

Isolierung des zweiten Zuckers aus Cheirotoxin

210 mg krist. Cheirotoxin und 100 mg Mutterlaugen des Desglucocheirotoxins wurden zusammen in 10 cm³ Äthanol gelöst, mit 10 cm³ 2proz. wäßriger H₂SO₄ versetzt und 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde im Vakuum auf etwa 10 cm³ eingeengt und 4mal mit je 10 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Chloroformauszüge hinterließen beim Eindampfen 150 mg rohes Anhydro-strophanthidin (verworfen).

Die wäßrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum von Chloroformresten befreit und zur Spaltung evtl. Äthylglykoside 2 Std. auf 100° erhitzt. Dann wurde heiß mit reinstem BaCO₃ neutralisiert, durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht und die klare Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit 1 Tropfen Wasser verflüssigt, mit Methanol versetzt und die flockige Fällung abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Die Methanol-Lösung hinterließ beim Eindampfen 110 mg farblosen Zuckersirup, der *Fehlingsche* Lösung stark reduzierte. Er wurde in 2 cm³ Leitungswasser gelöst, mit 2 cm³ Hefebouillon⁵¹ versetzt, kurz aufgekocht, abgekühlt und mit einer Spur

⁵⁰ B. Helferich, W. Schäfer, Organ. Syntheses, Coll. Vol. I, 364.

⁵¹ 5 g Bäckerhefe in 50 cm³ Leitungswasser aufgeschlemmt, unter Schütteln zum Sieden erhitzt, 5 Min. gekocht und nach Erkalten auszentrifugiert. Klare, gelbe Lösung verwendet.

lebender Hefe ⁵² beimpft und bei 37° stehengelassen. Nach 48 Std. waren 10 cm³ CO₂ entwickelt (über H₂O gemessen) und die Gärung beendet. Es wurde mit wenig ausgekochter Kohle aufgeköcht und durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol verflüssigt, mit abs. Alkohol versetzt und von der flockigen Fällung abfiltriert. Das Filtrat gab nach Eindampfen im Vakuum 70 mg glucosefreiem, farblosen Sirup, der *Fehlingsche* Lösung stark reduzierte. Er zeigte nach halbstündigem Trocknen im Hochvakuum bei 30° die spez. Drehung $[\alpha]_D^{20} = -11,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,344$ in Wasser).

13,680 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,16^\circ \pm 0,02^\circ$

p-Bromphenylhydrazon. 65 mg Zuckersirup und 65 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes *p*-Bromphenylhydrazin in 2 cm³ Methanol 20 Minuten unter Rückfluß gekocht, hierauf im Vakuum eingedampft und im Vakuum bei 50° getrocknet. Es wurde mit 2 Tropfen abs. Alkohol verflüssigt und mit abs. Äther versetzt. Nach Absitzen der Fällung wurde abdekantiert und das ausgefällte Hydrazon gut mit abs. Äther gewaschen. Aus der eingedampften Ätherlösung kristallisierte etwas *p*-Bromphenylhydrazin. Es wurde in viel abs. Äther gelöst, wobei sehr wenig unlösliches Material zurückblieb, das mit der Hauptfällung vereinigt wurde.

Das rohe, ausgefällte *p*-Bromphenylhydrazon wurde mit einer Spur abs. Alkohol verflüssigt und mit den krist. Bromphenylhydrazonen der folgenden Zucker geimpft: *D*-Xylose, *D*-Lyxose, *L*-Rhamnose, *D*-Gulomethylose, *L*-Idomethylose. Es trat aber keine Kristallisation ein.

Zur Spaltung des amorphen Hydrazons wurde im Vakuum eingedampft, mit 5 cm³ Wasser, 12 mg Benzoesäure und 0,3 cm³ frisch dest. Benzaldehyd in CO₂-Atmosphäre 1 Std. auf 100° erhitzt. Die trübe Mischung wurde 1 Std. bei 0° stehengelassen, filtriert und das Filtrat 6mal mit je 10 cm³ abs. Äther ausgeschüttelt (Auszüge verworfen). Die wäßrige Phase wurde im Vakuum von Äther-Resten befreit, mit wenig ausgekochter Tierkohle geschüttelt und filtriert. Das klare Filtrat hinterließ beim Eindampfen 57 mg farblosen, regenerierten Zuckersirup.

D-Xylosazon. Die 57 mg Sirup wurden in 1 cm³ Wasser mit 130 mg reinstem Phenylhydrazin und 2 Tropfen Eisessig 2 Std. unter CO₂-Atmosphäre auf 100° erhitzt. Zur Entfernung der CO₂-Reste wurde kurz evakuiert, aufgeköcht und nochmals evakuiert. Nach Zusatz von 2 cm³ Wasser trat allmählich Kristallisation ein, die bei 0° möglichst vervollständigt wurde. Die schmierige Fällung wurde abgenutscht, mit 1proz. Essigsäure und dann mit wenig Äther gewaschen, wobei sie hellgelb und pulverig wurde; Smp. 157–160°. Umkristallisieren aus abs. Alkohol-Äther gab 8 mg gelbe Nadeln von Smp. 163–168°; $[\alpha]_D^{18} = -27,7^\circ \pm 5^\circ$ (nach 10 Min.); $-25,2^\circ \pm 5^\circ$ (nach 25 Min.); $-22,7^\circ \pm 5^\circ$ (nach 5 Std.) und $-22,7^\circ \pm 5^\circ$ (nach 24 Std.) ($c = 0,398$ in Pyridin-Alkohol [2 : 3]).

⁵² 1mal frisch in 0,5 g Glucose, 10 cm³ Leitungswasser, 10 cm³ Hefebouillon ⁵¹ gären gelassen, nach Beendigung der Gärung auszentrifugiert.

4,005 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,11^\circ \pm 0,02^\circ (10')$; $-0,10^\circ \pm 0,02^\circ (25')$; $-0,09^\circ \pm 0,02^\circ (2 \text{ Std.})$ und $-0,09^\circ \pm 0,02^\circ (24 \text{ Std.})$.

Zur Analyse wurde 24 Std. im Hochvakuum bei 50° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

2,666 mg Subst. gaben 6,066 mg CO₂ und 1,460 mg H₂O (ETH)

C₁₇H₂₀O₃N₄ (286,34) Ber. C 62,18 H 6,14%

Gef. C 62,09 H 6,13%

Authentisches *D*-Xylosazon (*D*-Xylose aus Maiskolben bereitet) sowie die Mischprobe schmolzen unter denselben Bedingungen genau gleich. Die Mischprobe mit möglichst derselben Menge *L*-Xylosazon vom Smp. 164 bis 168° schmolz bei 200–206°. Die Mischung von authentischem *D*-Xylosazon und authentischem *L*-Xylosazon schmolz bei 200–205°. Authentisches *D*-Xylosazon zeigte $[\alpha]_D^{18} = -28,7^\circ \pm 4^\circ$ (nach 5 Min.); $-27,7^\circ \pm 4^\circ$ (nach 1 Std., ebenso nach 24 Std.) ($c = 0,6279$ in Pyridin-Alkohol [2 : 3]).

6,326 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = 0,18^\circ \pm 0,02^\circ$

(nach 5 Min.); $-0,17^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 1 Std., ebenso nach 24 Std.)

Cheirosid A

Das alte Präparat¹ vom Smp. 284–285° zeigte $[\alpha]_D^{20} = -24,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2911$ in Pyridin).

13,005 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,32^\circ \pm 0,02^\circ$

Das neue Präparat wurde aus Methanol-Azeton umkristallisiert. Farblose Nadeln vom Smp. 293–295°; $[\alpha]_D^{22} = -23,8^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,596$ in Pyridin).

16,095 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = -0,38^\circ \pm 0,02^\circ$

3,869 mg Subst. 10 Std. im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet, gaben 0,211 mg Gewichtsverlust = 5,45% (S. W.)

3,658 mg Subst. (Schweinchen) gaben 8,30 mg CO₂ und 2,60 mg H₂O (S. W.)

C₂₅H₃₄O₁₃ (682,78) Ber. C 61,55 H 7,97%

Gef. C 61,92 H 7,95%

Als Äquiv.-Gew. wurde früher¹ durch Laktontitration 834,12 gefunden, für Isocheirosid A jedoch 668,15. Die Mischprobe mit dem alten Präparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Azetat. 50 mg reines Cheirosid A vom Smp. 293–295° mit 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform) gab 57 mg Rohprodukt. Aus Azeton-Äther farblose Nadeln mit Doppel-Smp. 170–172°/245–247°; $[\alpha]_D^{18} = +6,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,164$ in Chloroform).

11,823 mg Subst. zu 1,0094 cm²; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = + 0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

3,677 mg Subst. gaben 8,12 mg CO₂ und 2,36 mg H₂O (F. W.)

C ₄₇ H ₈₆ O ₁₉ (935,00)	Ber. C 60,37	H 7,12%	Äquiv.-Gew. 133,5
	Gef. C 60,27	H 7,18%	Äquiv.-Gew. 128 ¹

Die früher¹ gefundene Wasserstoffaufnahme bei der Hydrierung entspricht 0,934 Mol, also einer Doppelbindung. Das Azetat zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 216 m μ und $\log \epsilon =$ etwa 4,1 (siehe Kurve im Theoret. Teil).

Versuch zur enzymatischen Spaltung von Cheirosid A

0,5 g Lakton A vom Smp. 293 – 295° in 75 cm³ Methanol und 50 cm³ dest. Wasser heiß gelöst. Nach Zugabe von weiteren 100 cm³ Wasser wurde das Methanol im Vakuum vollständig entfernt, 1,5 cm³ Toluol und 0,5 g Strophanthobiase-Präparat (aus Strophanthus-kombé-Samen) zugegeben und 7 Tage bei 37° unter öfterm Umschwenken stehen gelassen. Nach Zugabe von 500 cm³ Alkohol wurde kurz aufgekocht, durch wenig Kieselgur filtriert, mit Alkohol nachgewaschen, im Vakuum auf 50 cm³ eingeeengt und 6mal mit je 100 cm³ Chloroform-Alkohol (5 : 1) ausgeschüttelt. (Wäßrige Phase zur Prüfung auf Zucker). Die der Reihe nach mit 20 cm³ Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (0,45 g) gab aus Methanol-Azeton farblose Nadeln vom Smp. 293 – 295°; Mischprobe mit Cheirosid A ebenso.

Das bei der enzymatischen Spaltung erhaltene Präparat wurde von Herrn Dr. K. K. Chen biologisch an 10 Katzen geprüft und gab den im Theoret. Teil angegebenen Wert. Eine Probe wurde azetyliert und gab das bekannte Azetat mit Doppelschmelzpunkt 170 – 173° / 245 – 247°; Mischprobe ebenso.

Die wäßrige Phase der enzymatischen Spaltung wurde wie bei der enzymatischen Spaltung des Cheirottoxins aufgearbeitet. Es wurden 60 mg Sirup erhalten, der *Fehlingsche* Lösung nur schwach reduzierte. Nach Reinigung mit Methanol-Äthanol blieben nur noch 16 mg. Diese wurden wieder 24 Std. mit 1 cm³ 1-proz. methanolischer Salzsäure gekocht und wie dort aufgearbeitet; es ließ sich aber kein α -Methyl-D-glucosid-(1,5) isolieren. Die kleine Menge Sirup dürfte aus Verunreinigungen des rohen Ferments bestanden haben. — Eine Probe Strophanthobiase allein gab nach 2tägigem Stehen mit toluolhaltigem Wasser und Behandlung wie oben eine ähnliche kleine Menge eines methanollöslichen Sirups.

Saure Hydrolyse von Cheirosid A

1,2 g Cheirosid A vom Smp. 284 – 286° wurden genau wie früher beschrieben mit 1proz. H₂SO₄ in 50proz. Methanol 6 Std. unter Rückfluß gekocht und gaben 696 mg rohes Anhydrogenin A, sowie 667 mg Zuckersirup (nach Reinigung mit Methanol-Äthanol wie bei Cheirotoxin).

α -Anhydrogenin A und β -Anhydrogenin A

650 mg rohes Anhydrogenin (Smp. 240–250° Zers.) wurden an 19,5 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Für jede Fraktion dienten 65 cm^3 Lösungsmittel.

Fraktions- Nummer	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in mg	roher Smp.
1	Benzol	Spur	
2–3	Benzol-Chloroform (9 : 1)	4	
4	Benzol-Chloroform (4 : 1)	26	240–250°
5–9	Benzol-Chloroform (1 : 1)	522	258–267°
10	Benzol-Chloroform (1 : 4)	6	248–258°
11	Chloroform	3	
12	Chloroform-Methanol (9 : 1)	12	
13	Chloroform-Methanol (4 : 1)	7	
14	Chloroform-Methanol (1 : 1)	2	
15	Chloroform-Methanol (1 : 4)	2	
16	Methanol	Spur	

Die Fraktionen 5–9 gaben aus abs. Alkohol 358 mg α -Anhydrogenin A vom Smp. 263–265°. Die Mutterlaugen wurden mit Fraktion 4 vereinigt und das Ganze (190 mg) nochmals an 6 g Al_2O_3 sorgfältig chromatographiert. Vier mit Benzol-Chloroform (85 : 15) eluierte Fraktionen wogen zusammen 139 mg und schmolzen roh bei 230–238° (rohes β -Anhydrogenin A). Zwei weitere, mit demselben Lösungsmittelgemisch sowie mit Benzol-Chloroform (3 : 1) eluierbare Fraktionen gaben noch 36 mg rohes α -Anhydrogenin A.

 α -Anhydrogenin A

Aus abs. Alkohol farblose Nadeln, Smp. 263–265°; $[\alpha]_D^{18} = -26,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7648$ in Chloroform).

7,705 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,20^\circ \pm 0,02^\circ$.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 4 Std. bei 110° getrocknet (Schweinchen).

3,482 mg Subst. gaben 9,909 mg CO_2 und 2,900 mg H_2O (ETH)

4,130 mg Subst. verbrauchen 0,578 cm^3 H_2 (22,9°; 734 mm) entspr. 0,515 cm^3 (0°; 760 mm) (ETH)

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3$ (356,49) Ber. C 77,49 H 9,07% Doppelbind-Zahl 2,00

Gef. C 77,67 H 9,32% Doppelbind-Zahl 1,98

Die Färbung mit konz. H_2SO_4 war jetzt etwas anders als früher¹ nämlich: zitronengelb, gelbbraun (2 Std.), grün (6–24 Std.). Digitoxigenin gab unter gleichen Bedingungen die folgenden Farben: tiefgelb (0'), gelbbraun (15'), braun (1 Std.), dunkelbraun (2 Std.), grünschwartz (6 Std.), grün (7 Std.), grün (24 Std.); Uzarigenin aus Odorosid B jedoch die folgenden: farblos (0'),

schwachgelb (3'), gelb (10'), gelb mit Graustich (30'), grau (1 Std.), grau-grün (2 Std.), grau (24 Std.). Das Präparat zeigt im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei $216\text{ m}\mu$ und $\log \varepsilon = \text{ca. } 4,1$.

α -Anhydrogenin-A-azetat

50 mg α -Anhydrogenin A vom Smp. $263 - 265^\circ$ in 2 cm^3 abs. Pyridin und $1,5\text{ cm}^3$ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform) gab 55 mg Rohprodukt. Aus Äther, dann aus Azeton-Äther farblose, lange Nadeln vom Smp. $178 - 180^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -35,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8349$ in Chloroform).

8,412 mg Subst. zu $1,0075\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{18} = -0,30^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 3 Std. bei 110° getrocknet (Schweinchen).

3,742 mg Subst. gaben $10,307\text{ mg CO}_2$ und $2,886\text{ mg H}_2\text{O}$ (ETH)

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (398,52) Ber. C 75,34 H 8,61%

Gef. C 75,17 H 8,63%

α -Anhydro-uzarigenin-azetat aus Odorosid B (siehe weiter unten) sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Authentisches α -Anhydro-uzarigenin-azetat von Herrn Dr. *Tschesche*³⁵ schmolz auf unserem Block bei 178 bis 180° , die Mischprobe ebenso.

β -Anhydrogenin A

Aus Methanol farblose, feine Nadeln, Smp. $236 - 238^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +2,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8390$ in Chloroform).

8,457 mg Subst. zu $1,0075\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{18} = +0,02^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,174 mg Subst. gaben $10,479\text{ mg CO}_2$ und $2,952\text{ mg H}_2\text{O}$ (ETH)

4,600 mg Subst. verbr. $0,341\text{ cm}^3\text{ H}_2$ ($22,8^\circ$; 734 mm) entspr. $0,304\text{ cm}^3$ (0° ; 760 mm) (ETH)

$\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (356,49) Ber. C 77,49 H 9,07% Doppelbind.-Zahl 1,00

Gef. C 77,00 H 8,89% Doppelbind.-Zahl 1,05

Mit konz. H_2SO_4 wurde derselbe Farbwechsel erhalten wie mit α -Anhydrogenin A. Authentisches β -Anhydro-uzarigenin von *Tschesche*³⁵ schmolz auf unserem Block ebenfalls bei $236 - 238^\circ$, die Mischprobe ebenso.

β -Anhydrogenin-A-azetat

30 mg β -Anhydrogenin A vom Smp. $236 - 238^\circ$, wie oben azetyliert, gaben 35 mg Rohprodukt. Aus Äther, dann aus Äther-Petroläther farblose, dünne Nadeln vom Smp. $156 - 158^\circ$; $[\alpha]_{20}^{\text{D}} = -2,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8577$ in Chloroform).

8,641 mg Subst. zu $1,0075\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{20} = -0,02^\circ \pm 0,02^\circ$

3,42 mg Subst. gaben $9,43\text{ mg CO}_2$ und $2,70\text{ mg H}_2\text{O}$ (F. W.)

$C_{25}H_{34}O_4$ (398,52)	Ber. C 75,34	H 8,61%
	Gef. C 74,76	H 8,78%

Authentisches β -Anhydro-uzarigenin-azetat (leicht gelblich) von Herrn Dr. *Tschesche*⁵⁵ schmolz auf unserem Block bei 164–166°, die Mischprobe bei 158–164°.

Nachweis der D -Fucose in Cheirosid A

Die 667 mg Zuckergemisch aus Cheirosid A wurden wie beim Cheirotoxin beschrieben vergoren (10 cm³ Leitungswasser, 10 cm³ Hefebouillon), wobei 34 cm³ CO₂ entstanden (über ges. NaCl-Lösung gemessen). Der unvergärbare Teil wurde wie dort gereinigt und gab 460 mg farblosen, äthanol-löslichen Sirup, der *Fehlingsche* Lösung stark reduzierte; $[\alpha]_D^{15} = +41,4^\circ \pm 2^\circ$ (nach 1 Std.) und $+39,0^\circ \pm 2^\circ$ (nach 8 Std.) ($c = 1,7628$ in Wasser).

17,680 mg Subst. zu 1,0029 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,73^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 1 Std.) und $+0,69^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 8 Std.)

Krist. D -Fucose zeigt nach Literatur⁵³ in Wasser den Endwert $+75,2^\circ$. 175 mg von obigem Zuckersirup und 175 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes p -Bromphenylhydrazin wurden in 2 cm³ Methanol $\frac{1}{2}$ Std. unter Rückfluß gekocht, eingedampft und bei 50° im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde mit 0,2 cm³ abs. Alkohol verflüssigt und mit viel Äther versetzt, wobei das rohe Hydrazon amorph ausfiel. Nach Abdekantieren wurde der Rückstand gut mit Äther gewaschen. Die vereinigten Ätherlösungen wurden eingedampft, der krist. Rückstand mit reinem abs. Äther behandelt, wobei die Kristalle (p -Bromphenylhydrazin) sich lösten und noch etwas amorphes Material zurückblieb, das gut mit Äther gewaschen wurde.

Die in Äther unlöslichen, amorphen Anteile wurden in wenig Alkohol gelöst, mit 0,5 cm³ Wasser versetzt und der Alkohol im Vakuum entfernt, wobei sich das Hydrazon als Kristallpulver abschied. Es wurde auf dem Glasnagel abgenutscht und mit wenig Eiswasser gewaschen. Einengen der Mutterlauge im Vakuum gab noch etwas von derselben Reinheit. Zusammen 40 mg vom Smp. 176–178°. Umkristallisieren aus Methanol gab 12 mg farblose Blättchen vom Smp. 178–179°; $[\alpha]_D^{18} = +10,9^\circ \pm 3^\circ$ (nach 10 Min.) und $+8,03^\circ \pm 3^\circ$ (nach 24 Std.) ($c = 0,8715$ in Methanol).

8,797 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,095^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 10 Min.) und $+0,07^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 24 Std.)

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

3,698 mg Subst. gaben 5,837 mg CO₂ und 1,733 mg H₂O (F. W.)

$C_{12}H_{17}O_4N_2Br$ (333,20)	Ber. C 43,25	H 5,14%
	Gef. C 43,08	H 5,24%

Die Substanz erwies sich als methoxylfrei (F. W.).

⁵³ E. Votoček, Zeitsch. f. Zucker-Ind. in Böhmen, 25, 297 (1901); C. 1901, I, 1042.

Authentisches $_D$ -Fucose-p-bromphenylhydrazon⁴⁹ sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Das Vergleichspräparat zeigte $[\alpha]_D^{20} = +8,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0197$ in Methanol, nach 30 Min.).

10,275 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = +0,09^\circ \pm 0,02^\circ$

25 mg des obigen, nicht ganz reinen p-Bromphenylhydrazons (Methanol-Mutterlaugen) wurden im Hochvakuum bei 40° getrocknet, mit $1,5 \text{ cm}^3$ abs. Pyridin und 1 cm^3 Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Äther) gab 30 mg rohes Azetat. Aus Äther durch Einengen 18 mg feine, farblose Nadeln vom Smp. $157 - 158^\circ$; $[\alpha]_D^{18} = +21,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1033$ in Methanol).

11,05 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = +0,24^\circ \pm 0,02^\circ$

3,827 mg Subst. (Trocknung 2 Std. 60°) gaben $6,84 \text{ mg CO}_2$ und $1,76 \text{ mg H}_2\text{O}$ (F. W.)

$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_6\text{N}_2\text{Br}$ (543,35)	Ber. C 48,63	H 5,01 %
	Gef. C 48,78	H 5,15 %

Authentisches $_D$ -Fucose-p-bromphenylhydrazon-pentazetat (siehe unten) zeigte denselben Smp. und gleiche Drehung. Die Mischprobe gab keine Schmelzpunkterniedrigung.

Isocheirosid A

250 mg Azetat A wurden mit 25 cm^3 Methanol und 250 mg KOH in 10 cm^3 Wasser 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Die gelbe Lösung wurde im Vakuum vom Methanol befreit und tropfenweise mit HCl angesäuert, wobei ein farbloses Kristallpulver ausfiel. Abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Die Mutterlaugen wurden 6mal mit je 25 cm^3 Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrocknenen Auszüge hinterließen beim Eindampfen 180 mg farblosen Schaum.

Das oben genannte Kristallpulver gab nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methanol 33 mg Nadeln vom Smp. $272 - 274^\circ$; $[\alpha]_D^{21} = 0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8392$ in Pyridin).

8,455 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{21} = 0^\circ \pm 0,02^\circ$

3,670 mg 10 Std. im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet gaben $0,130 \text{ mg Gew.-Verlust} = 3,54\%$ (S. W.)

3,540 mg Subst. (Schweinchen) gaben $8,01 \text{ mg CO}_2$ und $2,54 \text{ mg H}_2\text{O}$ (S. W.)

$\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{13}$ (682,78)	Ber. C 61,55	H 7,97 %
	Gef. C 61,75	H 8,03 %

Die Laktontitration gab früher¹ Äquiv.-Gew. = 668,15. Die Mischprobe mit dem alten¹, bei $248 - 251^\circ$ schmelzenden Präparat schmolz bei 254 bis 264° . Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : braun, violett (3 Std.) und rot (20 Std.).

Isocheirosid-A-azetat

35 mg Mutterlaugen (vom Umkristallisieren des kristallinen Pulvers) in 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit CHCl₃ gab 50 mg Rohprodukt. Zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol gab 10 mg farblose Nadeln vom Smp. 280–282°; $[\alpha]_D^{18} = -6,8^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,4387$ in Chloroform).

4,420 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,03^\circ \pm 0,02^\circ$

3,665 mg Subst. gaben 8,096 mg CO₂ und 2,420 mg H₂O (OAB)

C ₄₇ H ₆₆ O ₁₉ (935,00)	Ber. C 60,37	H 7,12%
	Gef. C 60,28	H 7,39%

Iso-uzarigenin aus Isocheirosid A

190 mg rohes Isocheirosid A (schaumiges Produkt von Ausschüttelung sowie Rest Kristallmutterlaugen) wurden mit 10 cm³ Äthanol und 10 cm³ 2proz. wäßriger H₂SO₄ 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Im Vakuum auf 8 cm³ eingengt und 3mal mit je 15 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 96 mg Rückstand als farblosen Schaum. Er wurde an 3 g alkalifreiem Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Chloroform eluierbaren Anteile (46 mg) gaben aus Methanol 8 mg farblose Nadeln vom Smp. 256–258°; $[\alpha]_D^{20} = -3,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5896$ in Chloroform)

5,940 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,02^\circ \pm 0,02^\circ$

3,416 mg Subst. (Schweinchen) gaben 9,178 mg CO₂ und 2,800 mg H₂O (OAB)

C ₂₈ H ₃₄ O ₄ (374,50)	Ber. C 73,76	H 9,15%
	Gef. C 73,32	H 9,17%

Iso-uzarigenin aus Odorosid B (siehe unten) sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

Azetat. 20 mg Isogenin vom Smp. 256–258° in 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 20 mg Rohprodukt. Aus Methanol farblose Nadeln vom Smp. 236–238°; $[\alpha]_D^{20} = 11,1^\circ \pm 6^\circ$ ($c = 0,3573$ in Chloroform).

3,600 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,04^\circ \pm 0,02^\circ$

2,708 mg Subst. gaben 7,130 mg CO₂ und 2,100 mg H₂O (OAB)

C ₂₅ H ₃₆ O ₅ (416,54)	Ber. C 72,08	H 8,71%
	Gef. C 71,85	H 8,68%

Das Präparat gab in wenig Chloroform gelöst mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Iso-uzarigenin-azetat aus Odorosid B (siehe unten) sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich.

Isocheirosid H

1,25 g Azetat H vom Smp. 166–168° in 40 cm³ Methanol heiß gelöst, mit der Lösung von 1,25 g KOH in 2 cm³ Wasser versetzt und 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Nach Zusatz von 10 cm³ Wasser wurde das Methanol im Vakuum vollständig entfernt. Die klare wäßrige Lösung wurde bei 0°

mit 2 n-HCl bis zur deutlich lackmussauren Reaktion (aber nicht kongo-sauer) versetzt, wobei ein reichlicher Niederschlag von feinen Nadeln ausfiel. Er wurde scharf abgenutscht, mehrmals mit Eiswasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das klare wäßrige Filtrat und die Waschwässer wurden 8mal mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterließen beim Eindampfen im Vakuum nur wenig Rückstand. Dieser gab mit den Kristallen zusammen aus Methanol 800 mg farblose, feine Plättchen vom Smp. $270 - 272^\circ$; $[\alpha]_D^{18} = 0,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8231$ in Pyridin).

8,294 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = 0,00^\circ \pm 0,02^\circ$

3,687 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°) gaben 8,00 mg CO_2 und 2,57 mg H_2O (F. W.)

$\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{18}$ (682,78)

Ber. C 61,55 H 7,97 %

$\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{18} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (700,80)

Ber. C 59,98 H 8,05 %

Gef. C 59,21 H 7,79 %

Isocheirosid H ist löslich in Alkohol und Methanol, merklich in Wasser, wenig in Chloroform, fast unlöslich in Äther. Beim Schütteln der Chloroform-Alkohol (2 : 1)-Lösung mit wäßriger Sodalösung blieb es vorwiegend in der organischen Phase. Farbreaktion mit H_2SO_4 : rotviolett (wie Permanganat), rotbraun (15 Min.), gelbbrot (90 Min.), braunrot (3 Std.), blaurot (8 Std.), rosa (24 Std.).

Isocheirosid-H-azetat

50 mg Isocheirosid H vom Smp. $270 - 272^\circ$ in 2 cm^3 abs. Pyridin gelöst, mit $1,5 \text{ cm}^3$ Azetanhydrid versetzt und 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform) gab 63 mg Rohprodukt. Aus Äther, dann aus Azeton-Äther farblose, feine Plättchen vom Smp. $268 - 270^\circ$; $[\alpha]_D^{18} = -2,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9157$ in Chloroform).

9,226 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = -0,02^\circ \pm 0,02^\circ$

3,218 mg Subst. (Trockn. 12 Std. 100°) gaben 7,122 mg CO_2 und 2,060 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{47}\text{H}_{66}\text{O}_{19}$ (935,00)

Ber. C 60,37 H 7,11 %

Gef. C 60,40 H 7,16 %

Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : rot (0'), braun (15'), gelbbraun (90'), rotviolett (8 Std.), rot (9 - 24 Std.).

Hydrolyse von Isocheirosid H

0,7 g Isocheirosid H vom Smp. $270 - 272^\circ$ in 25 cm^3 Äthanol und 25 cm^3 2proz. wäßriger H_2SO_4 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung blieb klar. Es wurde im Vakuum auf 25 cm^3 eingengt und 6mal mit je 25 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Chloroformlösungen hinterließen beim Eindampfen 0,327 g rohes Isogenin H.

Die wäßrige Phase wurde im Vakuum von Chloroformresten befreit und anschließend noch 2 Std. auf 100° erhitzt. Dann wurde heiß mit BaCO_3 neutralisiert, heiß abgenutscht, mit einer Spur gewaschener Kohle geklärt

und im Vakuum eingedampft. Der mit 2 Tropfen Wasser verflüßigte Rückstand wurde mit Methanol versetzt, durch Filtration von Flocken befreit und im Vakuum eingedampft. Erhalten wurden 270 mg rohes Zucker-Gemisch als farbloser Schaum, der *Fehlingsche* Lösung stark reduzierte.

Isogenin H

325 mg rohes Isogenin H wurden an 10 g Al_2O_3 chromatographiert. 40 cm^3 Lösungsmittel pro Fraktion. Obschon die Säule oft mit Chloroform Methanol-Gemischen und 1mal mit reinem Methanol nachgewaschen wurde, ließen sich total nur 165 mg eluieren. Verlust 160 mg. Von den genannten 165 mg wurden 135 mg in 3 Fraktionen mit Benzol-Chloroform (1 : 1) abgelöst. Smp. roh 250–258°. Aus Methanol farblose Nadeln vom Smp. 256–258°; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -4,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8664$ in Chloroform).

8,721 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = -0,04^\circ \pm 0,02^\circ$

3,432 mg Subst. (Schweinchen) gaben 9,244 mg CO_2 und 2,837 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (374,50)	Ber. C 73,76	H 9,15%
	Gef. C 73,50	H 9,24%

Der Stoff war in kaltem Methanol und Äthanol wenig löslich, leichter in Azeton und Chloroform. Tetranitromethan gab keine Färbung. Farbreaktion in konz. H_2SO_4 : rosa, braun (15'), gelbbraun (90'), gelblich braungrün (8 Std.), violett (24 Std.).

Isogenin A sowie Iso-uzarigenin aus Odorosid B (siehe unten) und die Mischproben schmolzen genau gleich.

Isogenin-H-azetat

30 mg Isogenin H vom Smp. 256–258° in 0,75 cm^3 abs. Pyridin und 0,5 cm^3 Azetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 33 mg Rohprodukt. Aus Methanol farblose Nadeln vom Smp. 236–238°; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -11,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8187$ in Chloroform).

8,249 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = -0,09^\circ \pm 0,02^\circ$

3,799 mg Subst. gaben 10,04 mg CO_2 und 2,98 mg H_2O (S. W.)

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_5$ (416,54)	Ber. C 72,08	H 8,71%
	Gef. C 72,12	H 8,78%

Tetranitromethan gab keine Färbung. Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : rosa, braun (15'), gelbbraun (90'), braun (24 Std.). Die Mischprobe mit Isodigitoxigenin-azetat⁵⁴ vom Smp. 252–254° schmolz bei 218–223°. Isogenin A-azetat und Iso-uzarigenin-azetat aus Odorosid B (siehe unten) sowie die Mischproben schmolzen genau gleich.

Isolierung von D -Glucosazon aus Cheirosid H

60 mg Zuckergemisch in 1 cm^3 Wasser mit 120 mg Phenylhydrazin und 1 Tropfen Eisessig in CO_2 -Atmosphäre 2 Std. auf 100° erhitzt. Nach Entfernung des CO_2 im Vakuum wurde kurz aufgeköcht, nochmals eva-

⁵⁴ A. Windaus, G. Stein, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 2436 (1928) fanden Smp. 243°.

kuert und abgekühlt. Der Niederschlag wurde abgenutscht, mit 1proz. Essigsäure, dann mit Äther gewaschen. Umkristallisieren aus Alkohol-Äther gab 10 mg hellgelbes Osazon vom Smp. 208–210°; $[\alpha]_D^{18} = -49,9^\circ \pm 5^\circ$ (nach 5 Min.) und $-29,9^\circ \pm 5^\circ$ (nach 8 Std.) ($c = 0,4268$ in Alkohol-Pyridin [1 : 1]).

4,3 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = -0,20^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5') und $-0,14^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 8 Std.).

Zur Analyse wurde 3 Std. bei 60° getrocknet.

3,613 mg Subst. gaben 7,89 mg CO_2 und 1,99 mg H_2O (F. W.)

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_4$ (385,36)	Ber. C 60,32	H 6,19%
	Gef. C 60,27	H 6,16%

Authentisches D -Glucosazon sowie die Mischprobe schmolzen unter denselben Bedingungen genau gleich. Die spez. Drehung von authentischem D -Glucosazon betrug: $[\alpha]_D^{16} = -72,9^\circ \pm 5^\circ$ (nach 5'); $-70,5^\circ \pm 5^\circ$ (nach 30'); $-51,0^\circ \pm 5^\circ$ (nach 6 Std.); $-29,2^\circ \pm 5^\circ$ (nach 10 Std. und ebenso nach 24 Std.) ($c = 0,4114$ in Pyridin-Alkohol [1 : 1]).

4,145 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = -0,30^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5'); $-0,29^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 30'); $-0,21^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 6 Std.); $-0,12^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 10 Std.); $-0,12^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 24 Std.).

Nachweis der L -Rhamnose in Cheirosid H

180 mg rohes Zuckergemisch wurden in 2 cm^3 Leitungswasser und 2 cm^3 Hefebouillon, wie bei Cheirotoxin beschrieben, vergoren. Nach 72 Std. bei 30° waren 14 cm^3 CO_2 entwickelt (über Wasser gemessen) und die Gärung beendet. Aufarbeitung, wie bei Cheirotoxin beschrieben, gab 100 mg farblosen, alkohollöslichen Zuckersirup; $[\alpha]_D^{16} = +7,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,129$ in Wasser).

11,374 mg Sirup zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = +0,08^\circ \pm 0,02^\circ$

Reine L -Rhamnose zeigt im Wasser den Endwert $[\alpha]_D^{20} = +8,5^\circ$.

95 mg Sirup und 95 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes p -Bromphenylhydrazin wurden in 1 cm^3 Methanol 20 Minuten gekocht. Aufarbeitung wie beim D -Fucose-derivat aus Cheirosid A gab ca. 60 mg amorphes, in Äther unlösliches Hydrazon. Dieses lieferte mit wenig Alkohol-Wasser durch Einengen im Vakuum rohe Kristalle vom Smp. 158–168°. Aus Methanol-Äther 10 mg farblose Nadeln vom Smp. 166–168°; $[\alpha]_D^{17} = -13,2^\circ \pm 4^\circ$ (nach ca. 5'); $-3,3^\circ \pm 4^\circ$ (nach 10'); $0,0^\circ \pm 4^\circ$ (nach 30'); $+6,6^\circ \pm 4^\circ$ (nach 1 Std.); $+14,8^\circ \pm 4^\circ$ (nach 5 Std.); $+23,1^\circ \pm 4^\circ$ (nach 8 Std.); $+24,7^\circ \pm 4^\circ$ (nach 24 Std.) ($c = 0,6064$ in Methanol).

6,110 mg Subst. zu $1,0075 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = -0,08^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5'); $-0,02^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 10'); $0,0^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 30'); $+0,04^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 1 Std.); $+0,09^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5 Std.); $+0,14^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 8 Std.); $+0,15^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 24 Std.).

Zur Analyse wurde 3 Tage über P_2O_5 bei 20° getrocknet.

3,832 mg Subst. gaben 6,05 mg CO₂ und 1,73 mg H₂O (F. W.)

C ₁₂ H ₁₇ O ₄ N ₄ Br (333,19)	Ber. C 43,26	H 5,14%
	Gef. C 43,08	H 5,04%

Authentisches *L*-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon¹⁶ sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Das Vergleichspräparat zeigte $[\alpha]_D^{19} = -7,3^\circ \pm 4^\circ$ (nach 5'); $-3,6^\circ \pm 4^\circ$ (nach 10'); $0,0^\circ \pm 4^\circ$ (nach 30'); $+17,0^\circ \pm 4^\circ$ (nach 1 Std.); $+20,1^\circ \pm 4^\circ$ (nach 5 Std.); $+23,8^\circ \pm 4^\circ$ (nach 8 Std.) und $+27,4^\circ \pm 4^\circ$ (nach 24 Std.) ($c = 0,5465$ in Methanol).

5,506 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = \text{dm}$; $\alpha_D^{19} = -0,04^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5'); $-0,02^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 10'); $0,0^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 30'); $+0,09^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 1 Std.); $+0,11^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 5 Std.); $+0,13^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 8 Std.); $+0,15^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 24 Std.).

Für die Bereitung des krist. Azetates des *L*-Rhamnose-p-bromphenylhydrazons war leider zu wenig Material vorhanden, weshalb von dieser zusätzlichen Charakterisierungsmöglichkeit kein Gebrauch gemacht werden konnte.

Vergleichsmaterial

Für Vergleichszwecke wurden die folgenden Derivate in üblicher Weise bereitet:

<i>D</i> -Xylose-p-bromphenylhydrazon ¹¹	Smp. 128–129° aus Alkohol-Äther
<i>L</i> -Rhamnose-p-bromphenylhydrazon ¹⁷	Smp. 166–168° aus Alkohol-Äther
<i>D</i> -Lyxose-p-bromphenylhydrazon ^{12–16}	Smp. 159–160° aus Alkohol-Äther
<i>D</i> -Gulomethylose-p-bromphenylhydrazon ¹⁸	Smp. 133–134° aus Alkohol-Äther
<i>D</i> -Fucose-p-bromphenylhydrazon ⁵³	Smp. 178–179° aus Methanol-Äther

Ferner das noch unbekannte

L-Idomethylose-p-bromphenylhydrazon

80 mg *L*-Idomethylose⁵⁵ und 80 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes p-Bromphenylhydrazin wie üblich angesetzt. Aus Alkohol-Äther farblose Plättchen vom Smp. 66–68°; $[\alpha]_D^{20} = +6,3^\circ \pm 3^\circ$ (nach 15') ($c = 0,8724$ in Methanol).

8,790 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = +0,055^\circ \pm 2^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 2 Std. bei 60° getrocknet (Schweinchen).

3,506 mg Subst. gaben 5,53 mg CO₂ und 1,65 mg H₂O (F. W.)

C ₁₂ H ₁₇ O ₄ N ₂ Br (333,19)	Ber. C 43,25	H 5,14%
	Gef. C 43,21	H 5,27%

D-Digitalose-p-bromphenylhydrazon

325 mg Digitalose-Sirup (aus Emicymarin) wurden wie oben umgesetzt; das Derivat konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden.

D-Fucose-p-bromphenylhydrazon-pentazetat

50 mg *D*-Fucose-p-bromphenylhydrazon, 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbei-

⁵⁵ A. S. Meyer, T. Reichenstein, Helv. Chim. Acta 29, 139 (1946).

tung gab 60 mg Rohprodukt. Aus Äther durch Einengen farblose, feine Nadeln vom Smp. 157–158°; $[\alpha]_D^{20} = +21,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7931$ in Methanol).

7,990 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,17^\circ \pm 0,02^\circ$

3,698 mg Subst. (Trockn. 1 Std. 60°) gaben 6,56 mg CO₂ und 1,77 mg H₂O (F. W.)

C ₂₂ H ₂₇ O ₆ N ₂ Br (543,38)	Ber. C 48,63	H 5,01 %
	Gef. C 48,41	H 5,35 %

L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon-pentazetat

Aus 150 mg L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon vom Smp. 167–168° wie oben. Aus Äther-Petroläther farblose, feine Nadeln vom Smp. 118 bis 119°; $[\alpha]_D^{17} = +11,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,866$ in Methanol).

8,725 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 1 Std. 60° (Schweinchen).

3,902 mg Subst. gaben 6,94 mg CO₂ und 1,81 mg H₂O (F. W.)

C ₂₂ H ₂₇ O ₆ N ₂ Br (543,35)	Ber. C 48,63	H 5,01 %
	Gef. C 48,54	H 5,19 %

Die Azetate der p-Bromphenylhydrazone von D-Xylose und D-Gulomethylose konnten nicht kristallisiert erhalten werden.

Isodigitoxigenin

a) Nach Jacobs und Gustus⁵⁶.

100 mg Digitoxigenin nach Jacobs und Gustus angesetzt. Die Abscheidung begann nach 20 Minuten. Nach 1 Std. wurde abgenutscht und mit wenig 50 proz. Alkohol und Äther gewaschen. Ausbeute 40 mg Kristalle vom Smp. 262–266°. Die Mutterlaugen wurden mit etwas Wasser versetzt, im Vakuum leicht eingeengt, mit HCl auf $p_H = 4$ gebracht und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben weitere 40 mg vom selben Smp. Beide Teile zusammen aus Azeton umkristallisiert gaben farblose, feine Nadeln vom Smp. 266–269°; $[\alpha]_D^{17} = -18,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8726$ in Chloroform).

8,826 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = -0,16^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 6 Std. 100° (Schweinchen).

3,546 mg Subst. gaben 9,513 mg CO₂ und 3,005 mg H₂O (ETH)

C ₂₃ H ₃₄ O ₄ (374,50)	Ber. C 73,76	H 9,15 %
	Gef. C 73,21	H 9,47 %

Farbreaktion mit H₂SO₄: gelb (0'), gelbbraun (90'), braun (24 Std.).

b) Unter den bei der Isomerisierung von Cheirosid H angewandten Bedingungen.

100 mg Digitoxigenin vom Smp. 230–243° in 10 cm³ Methanol mit 100 mg KOH in 4 cm³ Wasser 2 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernung des Methanols im Vakuum wurde mit HCl auf $p_H = 4$ gebracht, worauf bald die Abscheidung feiner Kristalle einsetzte. Abgenutscht, mit wenig Wasser und Äther gewaschen. Ausbeute 80 mg. Smp. 260–269°. Aus

⁵⁶ W. A. Jacobs, E. L. Gustus, J. Biol. Chem. 78, 573 (1928).

der Mutterlauge durch Ausschütteln mit Chloroform nur noch 6 mg. Aus Alkohol farblose, feine Nadeln vom Smp. 266–269°; $[\alpha]_D^{17} = -16,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8729$ in Chloroform).

8,795 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,14^\circ \pm 0,02^\circ$

Isodigitoxigenin-azetat ⁵⁴

60 mg Isodigitoxigenin (nach Methode a) bereitet) mit 1 cm³ abs. Pyridin und 0,7 cm³ Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 65 mg Rohprodukt. Aus Methanol farblose, feine Nadelchen vom Smp. 252–254°; $[\alpha]_D^{17} = 0,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,155$ in Chloroform).

11,640 mg Subst. zu 1,0075 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = 0,00^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 6 Std. 100°.

3,636 mg Subst. gaben 9,541 mg CO₂ und 2,784 mg H₂O (ETH)

C ₂₅ H ₃₆ O ₅ (416,54)	Ber. C 72,08	H 8,71%
	Gef. C 71,61	H 8,57%

Das nach Methode b) bereitete Isodigitoxigenin gab ein Präparat, das gleich schmolz und bei der Mischprobe keine Depression zeigte.

Einwirkung von H₂SO₄ auf Isodigitoxigenin

140 mg Isodigitoxigenin in 12 cm³ Äthanol und 12 cm³ 2proz. wäßriger H₂SO₄ 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernung des Alkohols im Vakuum wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterließen 135 mg Rohprodukt. Aus Azeton Kristalle vom Smp. 264–268°; $[\alpha]_D^{17} = -4,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,9208$ in Chloroform). Die Tetranitromethanprobe war negativ. Mischprobe mit Ausgangsmaterial gab keine Depression. Farbreaktion mit H₂SO₄ war anfangs gleich, nach 24 Std. aber violett.

Azetylierung. 90 mg Rohprodukt (gesamte Mutterlauge und ein Teil der Kristalle) wurden wie oben azetyliert und das Rohprodukt (98 mg) an 3,5 g Al₂O₃ chromatographiert. Fast die Hälfte des Materials blieb wieder in der Säule hängen ⁵⁷. Die mit Benzol-Chloroform (9 : 1) und (4 : 1) eluierbaren Anteile (33 mg) gaben aus Azeton Kristalle vom Smp. 250 bis 252°; $[\alpha]_D^{18} = -6,9^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,431$ in Chloroform). Trocknung zur Analyse 6 Std. 100°.

3,043 mg Subst. gaben 7,961 mg CO₂ und 2,302 mg H₂O (ETH)

C ₂₅ H ₃₆ O ₅ (416,54)	Ber. C 72,08	H 8,71%
	Gef. C 71,47	H 8,47%

Die Mischprobe mit Isodigitoxigenin-azetat schmolz gleich.

α -Anhydro-uzarigenin-azetat (VII) aus Odorosid B

70 mg Uzarigenin-azetat (XIII) aus Odorosid B vom Smp. 267–268° in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst mit 0,25 cm³ reinstem POCl₃ versetzt und 1 Std. auf 100° erhitzt ⁵⁸. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther gab 52 mg

⁵⁷ Dies scheint für die Isoverbindungen charakteristisch zu sein.

⁵⁸ Analoger Ansatz mit Spur Wasser gab nach 18 Std. bei 20° nur unverändertes Ausgangsmaterial.

Rohprodukt vom Smp. ca. 200—240°. Es wurde an 1,5 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit abs. Benzol sowie mit Benzol-Chloroform (4 : 1) eluierbaren Anteile (42 mg) gaben aus Äther-Petroläther 25 mg farblose Nadeln vom Smp. 178—180°; $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -32,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9034$ in Chloroform). 9,102 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{16} = -0,29^\circ \pm 0,02^\circ$

3,731 mg Subst. gaben 10,30 mg CO_2 und 2,88 mg H_2O (S. W.)

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (398,52) Ber. C 75,34 H 8,61%

Gef. C 75,34 H 8,64%

Der Stoff gab in wenig Chloroform gelöst mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung. *Tschesche*^{31, 32} fand für α -Anhydro-uzarigenin aus Uzarin den Smp. 175° (unkorr.).

Iso-uzarigenin (X) aus Odorosid B

100 mg Uzarigenin-azetat vom Smp. 267—268° aus Odorosid B³⁰ wurden in 10 cm^3 Methanol gelöst, mit der Lösung von 125 mg KOH in 4 cm^3 Wasser versetzt und 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde im Vakuum auf 4 cm^3 eingengt, mit HCl angesäuert und 3mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Lösung hinterließ beim Eindampfen 85 mg Rückstand. Aus Methanol farblose Nadeln vom Smp. 256—258°. Das Material wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 210° Badtemperatur sublimiert und nochmals aus Methanol umkristallisiert. Smp. unverändert; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -3,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7672$ in Chloroform).

7,730 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{18} = -0,03^\circ \pm 0,02^\circ$

3,085 mg Subst. (Schweinchen) gaben 8,38 mg CO_2 und 250 mg H_2O (S. W.)

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15%

Gef. C 74,13 H 9,07%

Iso-uzarigenin-azetat (XI) aus Odorosid B

30 mg Iso-uzarigenin vom Smp. 256—258° aus Odorosid B in 1,5 cm^3 abs. Pyridin und 1 cm^3 Azetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit CHCl_3 gab 30 mg Rohprodukt. Aus Methanol-Äther farblose Nadeln vom Smp. 237—238°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9166$ in Chloroform).

9,235 mg Subst. zu 1,0075 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{20} = -0,09^\circ \pm 0,02^\circ$

2,105 mg Subst. gaben 5,60 mg CO_2 und 1,66 mg (S. W.)

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_5$ (416,54) Ber. C 72,08 H 8,71%

Gef. C 72,60 H 8,82%

Die Substanz gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Die Mikroanalysen wurden in den folgenden mikroanalytischen Laboratorien ausgeführt: Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH), Organ.-Chem. Anstalt der Universität Basel (OAB), bei Herrn *F. Weiser*, Basel (F. W.) und bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger*, Graz (S. W.).

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

Curriculum vitae

Als Sohn des Mohanlal L. Shah und der Dahiben, wurde ich, Natverlal M. Shah, am 30. Juli 1922 in Bhadarwa — in der Nähe von Baroda in Bombay Presidency (Indien) geboren. Meine Schulbildung erhielt ich in Ahmedabad, wo ich nach dem Besuch der Elementarschule während sieben Jahren an der Tutorial High School studierte. Ich bestand im Sommer 1939 an der Universität Bombay die Maturitätsprüfung.

Im gleichen Jahre immatrikulierte ich mich an der Universität Bombay für das Studium der Chemie. 1941 und 1942 absolvierte ich das 1. bzw. 2. Propaedeuticum und beschloß im Jahre 1943 mein Chemievorstudium mit dem B. Sc. (Hons). Hierauf besuchte ich für 2 Jahre das «Department of Chemical Technology of Bombay University (Pharmaceuticals and fine Chemicals Section)», wo ich nach Erhalten des B. Sc. (Tech.-Pharm. and F. C.) noch weitere 1½ Jahre als Assistent bzw. Mitarbeiter tätig war.

Im Jahre 1947 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. T. Reichstein an der Pharm. Anstalt der Universität Basel die vorliegende Dissertation, die im Herbst 1948 abgeschlossen wurde.

Während meiner Fachstudien in Indien besuchte ich (u. a.) die Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren Professoren: K. Venkatraman, H. R. Nanji, M. S. Shah; während meines Basler Aufenthaltes die der Herren Professoren und Dozenten T. Reichstein, H. Erlenmeyer, K. Leupin, E. Merian und C. Grob.

